



Ana Luísa Soutelo Maria

Licenciada em Química Aplicada – Perfil Química Orgânica

Selectores quirais aplicados à separação cromatográfica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Bioorgânica

Orientadora: Maria Manuela Marques Araújo Pereira,
Professora Auxiliar, Universidade Nova de Lisboa, Faculdade
de Ciências e Tecnologia

Júri:

Presidente: Doutor António Jorge Dias Parola

Arguente: Doutora Marta Cristina Parracho Cançado Corvo

Vogais: Doutora Maria Manuela Marques Araújo Pereira



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Dezembro de 2014

Direitos de cópia

Ana Luísa Soutelo Maria, *Copyright*

“A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor”.

Agradecimentos

Um especial obrigado à Professora Maria Manuela Marques Araújo Pereira pelo acompanhamento pedagógico desde 2010, pela compreensão, persistência e apoio incondicional mostrando-se sempre disponível nas etapas mais importantes quer da licenciatura quer do mestrado. À professora devo o facto de hoje poder entrar num laboratório e conseguir adaptar-me com facilidade devido à excelente formação que tive.

Agradeço também ao Professor Marco Diogo Richter Gomes da Silva, por me ter ensinado tudo o que sei hoje acerca de cromatografia gasosa bem como a manusear devidamente a instrumentação da respectiva técnica. Obrigada pelo auxílio sempre imediato e por tudo o que me ensinou.

Agradeço também à Professora Paula Branco e restantes professores que comigo partilharam o laboratório pelo auxílio na compreensão de situações pontuais de trabalho.

Agradeço ao Professor João Aires de Sousa e ao Professor Marcus Scotti pelo acompanhamento e auxílio nos estudos computacionais. Obrigada pela disponibilidade sempre imediata.

À minha mãe Ana Paula Soutelo agradeço o apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, estando presente sempre que precisei. Ao meu pai, Vítor Maria, agradeço o apoio sempre prestado e ter-me ensinado a lutar sempre por aquilo que quero.

Um enorme Obrigada a todos os meus colegas e amigos do laboratório 202, à Marina Pires, Ao Nuno Costa, à Cátia Santos, à Alexandra Loupas, ao Tomé Silva e Fausto Queda que apesar de não serem do mesmo grupo de investigação sempre auxiliaram em momentos complicados mostrando-se sempre disponíveis em debater possíveis alternativas para ultrapassar o insucesso obtido em situações pontuais. Por terem sido sempre os primeiros no auxílio, por me apoiarem sempre incondicionalmente, pela aprendizagem, carinho e amizade que sempre me prestaram agradeço. A vocês devo grande parte da minha formação como pessoa e química!

Obrigada à minha grande amiga Telma Simões pela amizade, carinho e compreensão prestados nos bons e maus momentos.

Obrigada à minha grande amiga Joana Lopes que apesar de se encontrar longe sempre me apoiou incondicionalmente e prontamente.

E por último, mas de todo não menos importante, agradeço ao “pessoal de Algés” amigos de uma vida que sempre me apoiam e estão presentes nos momentos e nas decisões mais importantes. Um obrigado especial aos meus grandes amigos Gonçalo Moncada e Mafalda Anjo pela grande amizade e por tudo o que sempre fizeram por mim.

Resumo

Os selectores quirais têm sido alvo de interesse em cromatografia para aplicação como fases estacionárias para discriminação quiral. Novas sínteses de selectores iónicos quirais alargam o âmbito da sua aplicação a novas fases estacionárias para cromatografia gasosa quiral.

Anteriormente, o líquido iónico triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose, derivado da α -ciclodextrina, mostrou discriminação quiral quando aplicado como fase estacionária em cromatografia gasosa. Face ao sucesso alcançado este composto foi seleccionado como modelo nos estudos de Mecânica Molecular (programa AutoDock) e Mecânica Quântica (método semi-empírico PM6) da eficiência da discriminação enantiomérica de uma fase estacionária.

As características consideradas necessárias para alcançar discriminação quiral foram estabelecidas e consideradas na síntese de novos líquidos iónicos derivados de α e β -ciclodextrinas. Duas estratégias foram definidas, a colocação da extremidade iónica junto do esqueleto de ciclodextrina e a separação dessa extremidade do esqueleto de ciclodextrina com a ajuda de uma cadeia carbonada denominada espaçador. O triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose ($\eta=45,5\%$) e dois novos líquidos iónicos com espaçadores, o triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose ($\eta=53,7\%$) e o triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose ($\eta=59,1\%$), foram preparados e caracterizados por espectroscopias de infravermelho e de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , HMBC, COSY e NOESY.

A sua eficiência quando utilizados como fases estacionárias em cromatografia gasosa foi testada na análise de compostos quirais. Os líquidos iónicos puros ou em misturas foram imobilizadas em tubos capilares (diâmetro 0,5mm) de sílica virgem ou sujeitos a um pré-tratamento químico de modo a formar rugosidades internas de NaCl (método de whiskers), na preparação de colunas de fase estacionário iónica quiral.

A coluna preparada a partir do capilar virgem com triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose dispersa no líquido iónico cloreto de metil-imidazólio revelou maior potencial na discriminação quiral de uma mistura racémica de limoneno e uma elevada eficiência traduzida por 3720 pratos teóricos por metro de coluna para uma mistura de hidrocarbonetos.

A capacidade de formação de complexos diastereoméricos das fases estacionárias de líquidos iónicos com espaçador com os compostos quirais analisados foi estudada por ^1H -RMN (NOESY) em solução. A análise dos resultados permite inferir a possibilidade de um bloqueio da cavidade da ciclodextrina pelo fragmento iónico de piridínio ou, em alternativa, uma distorção do anel da ciclodextrina não permitindo a discriminação quiral de misturas racémicas. Estas observações explicam a fraca discriminação quiral observada em cromatografia gasosa.

Palavras-chave: Ciclodextrinas, selectores quirais iónicos, fases estacionárias quirais, discriminação quiral, espaçadores.

Abstract

The chiral selectors have been a target of interest in the field of chromatography as stationary phases for chiral discrimination. New synthesis of chiral ionic selectors extend the scope of its applications as chiral stationary phases for gas chromatography. Previously, triflate ionic liquid (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-pyridinium)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-methyl)cyclomaltohexaose derived from α -cyclodextrin showed chiral discrimination when used as stationary phase in gas chromatography. Given the success achieved this compound was selected as a model in Molecular Mechanics (AutoDock program) and Quantum Mechanics studies (semi-empirical method PM6) of the efficiency of enantiomeric discrimination of a stationary phase.

The features considered necessary to achieve chiral discrimination have been established and regarded in the synthesis of novel ionic liquids derived from α and β -cyclodextrins. Two strategies have been established, the first when the ionic moiety is close to the cyclodextrin skeleton in the ionic liquid and the second when the ionic moiety is separated from the cyclodextrin skeleton with the aid of a carbon chain called spacer. The (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-pyridinium)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-methyl)cyclomaltoheptaose triflate ($\eta = 45.5\%$) and two new ionic liquids with spacers, the (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-butylpyridinium)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-methyl)cyclomaltohexaose triflate ($\eta = 53.7\%$) and the (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-butylpyridinium)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-methyl)cyclomaltoheptaose triflate ($\eta = 59.1\%$) were prepared and characterized by infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance ^1H , ^{13}C , HMBC, COSY and NOESY.

Its efficiency when used as stationary phases for gas chromatography analysis was tested on chiral compounds. The pure or mixed ionic liquids were immobilized directly on silica capillary tubes (diameter 0.5 mm) or on tubes subjected to a chemical pre-treatment to form internal roughness NaCl (whiskers method) prior to the preparation of chiral ionic stationary phase columns.

The column filled with (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-pyridinium)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-methyl)cyclomaltoheptaose triflate dispersed in the ionic liquid methyl-imidazolium chloride showed a higher potential in the chiral discrimination of the racemic mixture of limonene and high efficiency translated by 3720 theoretical plates per meter of column length for a mixture of hydrocarbons.

The diastereomeric complexes formed between the ionic liquid with spacer used as stationary phases and the chiral compounds studied were analyzed by ^1H -NMR (NOESY) in solution. The results indicate the possibility of a blockade of the cyclodextrin cavity by the ionic pyridinium moiety, or alternatively, the cyclodextrin ring distortion, both of them prevent the interaction of chiral compounds. These observations explain the poor chiral discrimination observed in gas chromatography.

Keywords: Cyclodextrins, chiral ionic liquids as selectors, chiral stationary phases, chiral discrimination, cyclodextrins spacers.

Índice de Matérias

Capítulo 1. Introdução	1
1.1 Quiralidade	3
1.2 Selectores quirais	4
1.2.1 Modelo de interação de três pontos	4
1.3 Ciclodextrinas	5
1.3.1 A descoberta	6
1.3.2 A estrutura	6
1.3.3 Propriedades físicas e químicas das ciclodextrinas	7
1.3.4 Fenómeno de inclusão da ciclodextrina	8
1.4 Ciclodextrinas funcionalizadas	8
1.4.1 Ciclodextrinas permetiladas	8
1.5 Cromatografia gasosa	9
1.5.1 Cromatografia gás-líquido	11
1.5.2 Fase estacionária	12
1.5.3 Colunas capilares	12
1.5.4 Mecanismos de separação	13
1.5.5 Método de caracterização das colunas cromatográficas	14
1.5.5.1 Quantificação da eficiência da coluna	14
1.5.5.2 Teste de Grob	15
1.5.6 Método de Rohrschneider-McReynolds	17
1.5.7 Cromatografia gasosa quiral (CGQ)	19
1.5.8 Ciclodextrinas em cromatografia gasosa quiral	20
1.5.8.1 Ciclodextrinas não funcionalizadas	20
1.5.8.2 Ciclodextrinas funcionalizadas	20
1.6 Docking Molecular	22
1.7 Líquidos iónicos	23
1.7.1 A origem	23
1.7.2 O que são	23
1.7.3 Líquidos iónicos quirais (<i>Chiral Ionic Liquids – CILs</i>)	23
1.7.3.1 Fases estacionárias quirais iónicas	24
1.7.3.2 Ciclodextrinas iónicas	25
Capítulo 2. Discussão de Resultados	27
2.1 Previsão Computacional de discriminação quiral	29
2.2 Síntese de espaçadores	34
2.2.1 Obtenção do 2-(bromoetoxi)(<i>tert</i> -butil)dimetilsilano	37
2.2.2 Obtenção do 2-(2'((<i>tert</i> -butildimetilsililoxi)etoxi)etanol e do 2-(2'((<i>tert</i> -butildifenilsililoxi)etoxi)etanol	38
2.2.3 Sulfonação dos espaçadores	41

2.2.4	Obtenção do espaçador <i>terc</i> -butil(2-(2-iodoetoxi)etoxi)difenilsilano	44
2.2.5	Testes de reactividade dos espaçadores com álcoois primários e secundários	46
2.2.5.1	Obtenção do (2-(benziloxi)etoxi)(<i>terc</i> -butil)dimetilsilano.....	47
2.2.5.2	Obtenção do 1-etoxipentano.....	49
2.2.6	Obtenção dos líquidos iónicos triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butilpiridin-1-íum)pentakis(2', 3', 6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose	50
2.2.6.1	Obtenção do composto (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> butildifenilsilil)pentakis/hexakis(2,3,6-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose/heptaose e do composto 2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil)pentakis/hexakis(2,3,6-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose/heptaose	52
2.2.6.2	Obtenção do composto (2,3-di- <i>O</i> -metil)heptaquis(2,3,6-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose	55
2.2.6.3	Obtenção do líquido iónico triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6-piridínin-1-io)heptaquis (2,3,6-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose	55
2.2.6.4	Síntese do composto triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butilpiridín-1-io)pentakis/hexaquis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexa/heptaose.....	57
2.3	Enchimento e performance das fases estacionárias	62
2.3.1	Determinação da eficiência das colunas cromatográficas	65
2.3.2	Teste de Grob	68
2.3.3	Teste de Polaridade da coluna	72
2.3.4	Amostras quirais testadas	76
Capítulo3. Conclusões		83
Capítulo4. Procedimento Experimental.....		87
4.1	Preâmbulo	89
4.2	Estudos computacionais.....	90
4.2.1	Optimização da estrutura da molécula hóspede (receptor) α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada e dos hospedeiros (ligando) enantioméricos	90
4.2.2	Simulação de Docking Molecular	90
4.3	Síntese.....	91
4.3.1	Síntese do (2-bromoetoxi)-(<i>terc</i> -butil)dimetilsililo (9)	91
4.3.2	Síntese do 2-(2'-((<i>terc</i> -butildimetilsililoxi)etoxi)etanol (12).....	91
4.3.3	Síntese do 2-(2'-((<i>terc</i> -butildifenilsilil)oxi)etoxietanol(14).....	92
4.3.4	Síntese do tosilato de 2-(2'-(((<i>terc</i> -butildifenilsilil)oxi)etoxi)etil (18)	93
4.3.5	Síntese do composto <i>terc</i> -butil(2-(2-iodoetoxi))difenilsilano(22).....	94
4.3.6	Síntese do (2-(benziloxi)etoxi) <i>terc</i> -butildimetilsilano(29).....	94
4.3.7	Síntese do <i>terc</i> -butildimetil(2-(pentiloxi)etoxi)silano(31)	95
4.3.8	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil)pentakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose (41).....	95
4.3.9	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildimetilsilil)hexakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose (42)	96
4.3.10	(2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildifenilsilil)pentakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose(43)	97
4.3.11	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> - <i>terc</i> -butildifenilsilil)hexakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose (44)	98
4.3.12	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil)pentaquis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose (45)	99
4.3.13	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil)hexaquis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose (46)	99

4.3.14	Síntese do composto triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -piridínio)hexakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose (48)	100
4.3.15	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butoxi- <i>terc</i> -butildimetilsilil)pentakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose(49)	101
4.3.16	Síntese do (2,3-Di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butoxi- <i>terc</i> -butildimetilsilil) hexakis (2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose(50)	102
4.3.17	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butoxi)pentakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose (51). 103	
4.3.18	Síntese do (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butoxi)hexakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose (52). 103	
4.3.19	Síntese do líquido iônico triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butilpiridínio) pentakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltohexaose(53)	104
4.3.20	Síntese do líquido iônico triflato de (2,3-di- <i>O</i> -metil-6- <i>O</i> -butilpiridínio) hexakis(2',3',6'-tri- <i>O</i> -metil)ciclomaltoheptaose(54)	105
4.4	Cromatografia	106
4.4.1	Revestimento das colunas com as fases estacionárias	106
Capítulo5. Referências Bibliográficas		107

Índice de figuras

Figura 1.1. Enantiómeros e diastereoisómeros da lactona de whisky. a e b , c e d são enantiómeros e a e c , a e d , c e b diastereoisómeros.	4
Figura 1.2. Modelo de interacção de três pontos. a - o enantiómero apresenta três grupos que coincidem perfeitamente com os três locais do selector. b - o enantiómero interage sómente com dois locais do selector.	4
Figura 1.3. a - Polímero de celulose – unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$, b - dextrina – polissacarídeo de baixo peso molecular obtida através da hidrólise ácida do amido com unidades de glicose unidas por ligações glucosídicas $\alpha(1-4)$	6
Figura 1.4. Representações 3D das ciclodextrinas α , β e γ	7
Figura 1.5. Estruturas 3D da β -ciclodextrina nativa (a) e β -ciclodextrina permetilada (b), optimizadas pelo programa MOPAC.	9
Figura 1.6. Representação esquemática adaptada do processo cromatográfico	10
Figura 1.7. Esquema de um cromatógrafo gasoso.	12
Figura 1.8. (a) Coluna de sílica fundida. (b) estrutura da poli-amida.	13
Figura 1.9. Coordenada reaccional para a formação de complexos diastereoméricos entre os enantiómeros e a fase estacionária.	13
Figura 1.10. Exemplo de um cromatograma (adaptado de labvirtual.eq.uc.pt).	15
Figura 1.11. Teste cromatográfico realizado para uma coluna com a fase estacionária SE-52.	16
Figura 1.12. Moléculas usadas na caracterização de colunas através do método de Rohrscheideider-McReynolds. Benzeno (a), 1-butanol (b), 2-pentanona (c), 1-nitropropano (d), piridina (e).	18
Figura 1.13. Determinação do índice de Kovatz para a substância X por interpolação entre os dois n-alcenos ...	19
Figura 1.14. Estrutura dos líquidos iónicos triflato, iodeto ou bis(trifluorometilsulfonil)imida β -ciclodextrina-6-(butilimidazólio) (a) e da β -ciclodextrina-6-(tripropilfosfónio) (b) usadas no estudo descrito.	24
Figura 1.15. α -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio) (1a), mono-6-deoxi-6-(1-vinil-1 <i>H</i> -imidazol-3-io) (2a) com contra-íão triflato, β -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio) (1b) e mono-6-(1-vinil-1 <i>H</i> -imidazol-3-io) (2b).	25
Figura 1.16. Possível inclusão/bloqueio do catião ou anião do líquido iónico na cavidade da ciclodextrina.	26
Figura 1.17. Líquidos iónicos derivados da α (a) e β (b) ciclodextrinas.	26
Figura 2.1. Compostos usados para testar a eficiência de separação cromatografia usando como fase estacionária triflato de α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada com o contra-íão triflato.	29
Figura 2.2 a -Complexo de energia mais baixa da CD iónica 1a com o (<i>R</i>)-éster mandélico (3b) e b -da CD iónica 1a com o (<i>S</i>)-éster mandélico (3a)	32
Figura 2.3. a -Complexo de energia mais baixa da CD iónica 1a com o epóxido de estireno <i>R</i> (4b) e b -da CD iónica 1a com o epóxido de estireno <i>S</i> (4a)	32
Figura 2.4 a -Complexo de energia mais baixa da CD iónica 1a com o laurato de mentilo 1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> , (5a) e b -da CD iónica 1a com o laurato de mentilo 1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>R</i> (5b)	33
Figura 2.5. a -Complexo de energia mais baixa da CD iónica 1a com a lactona de whisky 4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> (6a) e b -da CD iónica 1a com a lactona de whisky 4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> (6d)	33
Figura 2.6. a -Complexo de energia mais baixa da CD iónica 1a com a lactona de whisky 4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> , (6b) e b -da CD iónica 1a com a lactona de whisky 4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> (6c)	34
Figura 2.7. a - TIPNO, b - equilíbrio entre o complexo formado pela auto-inclusão do TIPNO na ciclodetxrina e a forma sem inclusão	35
Figura 2.8. Representação esquemática das CDs	35
Figura 2.9. Sal de ciclodextrina com o espaçador	36
Figura 2.10. Estratégia sintética para a obtenção dos espaçadores a adicionar no átomo de oxigénio em C-6 numa unidade de glucopiranoose da ciclodextrina.	36
Figura 2.11. Mecanismo proposto para a formação de 9 a partir de 7	37
Figura 2.12. Plano sintético utilizado para a preparação de espaçadores derivados do dietilenoglicol.	38
Figura 2.13. Mecanismos propostos para a síntese do 2-(2'((<i>tert</i> -butildimetilsililoxi)etoxi)etanol (12) e do 2-(2'((<i>tert</i> -butildifenilsililoxi)etoxi)etanol(14)	39
Figura 2.14. Conversão do álcool primário 14 num bom grupo de saída através de uma reacção de tosilacção	43
Figura 2.15. Mecanismo de formação do composto <i>tert</i> -butil(2-(2-iodoetoxi)etoxi)difenilsilano.	45
Figura 2.16. Estratégia sintética dos testes de reactividade realizados com os espaçadores 9 e 19 com os álcoois primários 23 , 30 e o álcool secundário 32	46
Figura 2.17. Esquema proposto para a formação do benzaldeído na reacção ii por processo de auto-oxidação ..	48
Figura 2.18. Mecanismo proposto para a obtenção de 29 a partir de 23 e 9 a partir de uma reacção de catálise por transferência de fase.	49
Figura 2.19. Análise retrossintética dos líquido iónicos sintetizados a partir das ciclodextrinas α e β	51

Figura 2.20. Protecção do grupo OH de uma unidade de glucopirranose da ciclodextrina em C-6 com TBDPS-Cl seguida de metilação dos restantes grupos hidroxilos para obtenção dos compostos monossililados permetilados 41-44.	52
Figura 2.21. Ampliação dos sinais dos prótons anoméricos da β -ciclodextrina permetilada e monossililada	54
Figura 2.22. Desprotecção de -OTBDPS e -OTBDMS para obtenção dos álcoois primários 45 e 46.	55
Figura 2.23. Síntese dos líquidos iónicos obtidos a partir da ciclodextrina β	56
Figura 2.24. Líquido iónico 48.	57
Figura 2.25. i) Síntese da ciclodextrina α e β permetiladas com espaçador.	57
Figura 2.26. ii) Reacção de desprotecção do espaçador dos derivados da α e β ciclodextrinas 49 e 50.	57
Figura 2.27. iii) Síntese dos líquidos iónicos 53 e 54 obtidos a partir da ciclodextrina α e β	58
Figura 2.28. Líquido iónico 53(n=5), 54 (n=6).	60
Figura 2.29. Espectro de COSY do líquido iónico sintetizado a partir da α -ciclodextrina. Correlação entre os prótons metilénicos H-1''a e b e H-2'' e H-3''.	60
Figura 2.30. Espectro de NOESY do líquido iónico sintetizado a partir da α -ciclodextrina. Correlação entre os prótons do fragmento piridínio H-1'''- H-3''' e os prótons anoméricos da α -ciclodextrina.	61
Figura 2.31. Cromatograma obtido para os quatro enantiómeros da lactona de Whisky. Injector e Fid a 250°C. Gás de arraste hidrogénio, ajustado de modo a obter-se o pico de solvente a cerca de 0,50 min. Volume de injeção= 1 μ L de uma solução de 150 ppm em hexano. Forno do injector operado a 120°C isotérmica.	62
Figura 2.32. Mecanismo de degradação da sílica por tratamento de rugosidades de NaCl (<i>whiskers</i>).	63
Figura 2.33. Interações electrostáticas na superfície de sílica tratada com o método de rugosidades de NaCl(<i>whiskers</i>).	63
Figura 2.34. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C ₈ -C ₂₀ nas colunas 1 e 2.	66
Figura 2.35. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C ₈ -C ₂₀ nas colunas 3 e 4.	67
Figura 2.36. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C ₈ -C ₂₀ nas colunas 6 e 7. Volume de injeção: 1,0 μ L, split: 33mL/min, pressão de gás de arraste 15kPa, e fluxo de gás de arraste 0,5 mL.s ⁻¹	67
Figura 2.37. Cromatogramas obtidos nas colunas 1 e 2 para uma solução de 1/20mL da mistura de Grob com programa gradiente com início em 60°C rampa de 2°C/minuto até 120°C e programa gradiente com início em 80°C rampa de 2°C/minuto até 120°C. Volume de injeção=1,0 μ L, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s ⁻¹ e 0,33mL.s ⁻¹	69
Figura 2.38. Cromatogramas obtidos nas colunas 3 e 4 para uma solução de 1/20mL da mistura de Grob com programa gradiente com início em 60°C rampa de 2°C/minuto até 120°C e programa gradiente com início em 80°C rampa de 2°C/minuto até 120°C. Volume de injeção=1,0 μ L, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s ⁻¹ e 0,33mL.s ⁻¹	70
Figura 2.39. Cromatogramas obtidos do teste de Grob realizado nas colunas 6 e 7 sem tratamento químico prévio com programa com início em 80°C, rampa de 2°C/min até 120°C, pressão de gás de arraste 15 kPa e fluxo de gás de arraste 1 mL.min ⁻¹	70
Figura 2.40. Compostos testados nas colunas 1-7.	76
Figura 2.41. Cromatogramas obtidos para uma mistura de <i>orto</i> , <i>meta</i> e <i>para</i> -xileno. Programa de temperatura isotérmica de 60°C, split= 33mL/min, pressão de gás de arraste 25kPa e fluxo de gás de arraste 1,5mL.min ⁻¹ , volume da amostra injectada=1 μ L.	77
Figura 2.42. Cromatograma obtido para uma solução de linalool 1000 ppms. Fluxo de gás de arraste 1,5mL/min (a), 1mL/min (b) e 1,5mL/min(c) com programa de temperatura isotérmica de 50°C. Volume de injeção da amostra: 1,0 μ L, concentração da amostra 1000 ppm.	78
Figura 2.43. Cromatogramas obtidos para uma solução de 1000 ppms de dimetoxitetrahydrofurano à temperatura isotérmica de 60°C (a) e 50°C (b). Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min ⁻¹ , volume da amostra injectada=1 μ L.	79
Figura 2.44. Cromatogramas obtidos para uma solução de 250ppms de uma mistura racémica de lactona de whisky à temperatura isotérmica de 80°C Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min ⁻¹ , volume da amostra injectada=1 μ L.	79
Figura 2.45. Cromatogramas obtidos para uma solução de 500ppms de uma mistura racémica de lactona de whisky à temperatura isotérmica de 80°C Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min ⁻¹ , volume da amostra injectada=1 μ L.	80
Figura 2.46. Cromatogramas obtidos à temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de 1000 ppm da lactona de whisky racémico na coluna com a fase estacionária 6 (a) 7 (b). Volume de injeção: 1,0 μ L, split: 33mL/min, pressão de gás de arraste 10kPa e 35kPa, e fluxo de gás de arraste 0,55 e 1,93 mL.s ⁻¹	81
Figura 2.47. Cromatogramas obtidos à temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de 1000 ppm de epóxido de estireno racémico na coluna com a fase estacionária 7. Volume de injeção: 1,0 μ L, split: 33mL/min, pressão de gás de arraste 10kPa e 35kPa, e fluxo de gás de arraste 0,55 e 1,93 mL.s ⁻¹	81

Índice de tabelas

Tabela 1.1. Força, direcção e distância entre interações moleculares	5
Tabela 1.2. Componentes de uma mistura de Grob e respectiva função	17
Tabela 2.1. Representação dos tempos de retenção de cada molécula-teste na fase estacionária α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada (Figura 1.15a) e dos valores de energia mínima obtida para os complexos enantiómero/CD através de estudos de Docking e de Mecânica Quântica.	30
Tabela 2.2. Tabela com sinais e constantes de acoplamento de cada átomo de hidrogénio nas moléculas 12 e 13	40
Tabela 2.3. Tabela com sinais e constantes de acoplamento de de cada átomo de hidrogénio nas moléculas 14 e 15	40
Tabela 2.4. Tabela com bandas seleccionadas de cada espectro de IV dos espaçadores sintetizados derivados do dietilenoglicol.	41
Tabela 2.5. Condições experimentais de sulfonação aplicadas aos diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas sob atmosfera de N ₂	42
Tabela 2.6. Desvios químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento dos prótons dos compostos 14 e 18	43
Tabela 2.7. Condições experimentais aplicadas ao álcool benzílico e respectivo espaçador. Todas as reacções foram realizadas a atmosfera de N ₂	47
Tabela 2.8. Condições experimentais aplicadas ao pentanol e diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas a atmosfera de N ₂	49
Tabela 2.9. Condições experimentais aplicadas ao mentol (34) e diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas a atmosfera de N ₂	50
Tabela 2.10. Tabela com os dados de ¹ H-RMN das ciclodextrinas α e β permetiladas e mono-sililadas.	53
Tabela 2.11. Tabela com os sinais de ¹ H-RMN para os derivados de ciclodextrina sintetizado 49-54	59
Tabela 2.12. Fases estacionárias testadas em cromatografia gasosa.	65
Tabela 2.13. Características das colunas 1-7 à temperatura isotérmica de 80°C, split de 25mL/min, pressão de gás de arraste 15 kPa e fluxo de gás de arraste 0,5mL.m ⁻¹ . Volume da amostra injectada=1 μ L. t _m - tempo morto, t _r - tempo de retenção, t _r '- tempo de retenção ajustado, k' - factor de capacidade, W _{1/2} - largura do pico a meia altura, n- pratos teóricos obtidos nas diferentes colunas, n/m- pratos teóricos obtidos por metro de coluna.	66
Tabela 2.14. Componentes da mistura de Grob e respectiva função.	68
Tabela 2.15. Número de separação obtido para cada coluna testada calculados através dos tempos de retenção dos ésteres do teste de Grob realizado em todas as colunas.	71
Tabela 2.16. Tempos de retenção dos compostos teste obtidos nas colunas com a fase estacionária triflato mono-6-metilpiridínio- β -ciclodextrina permetilada dispersa no líquido iónico metil-piridínio com tratamento prévio químico(a), sem tratamento prévio químico (b) e com a fase estacionária apolar (equalano). O tempos de retenção dos compostos-teste nas colunas testadas foram obtidos para um temperatura isotérmica 80°C, volume de injeção=1,0 μ L, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s ⁻¹ e 0,33mL.s ⁻¹	73
Tabela 2.17. Índices de Kovatz obtidos nas colunas testadas calculados a partir dos índices de retenção obtidos para os compostos teste(Tabela 2.16).	73
Tabela 2.18. Constantes de fase das colunas 1-4 , obtidas para os compostos teste X', Y', Z', U', S', calculadas através do índice de Kovatz obtido para as colunas 1-4	74
Tabela 2.19. Índices de Kovatz de uma coluna de esqualano	74
Tabela 2.20. Polaridade total das colunas 1-4 testadas.	75

Lista de Abreviaturas

AT	Ácido tartárico
FEQ	Fase estacionária quiral
CD	Ciclodextrina
IUPAC	União internacional de Química Pura e Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)
CL	Cromatografia líquida
CG	Cromatografia Gasosa
CGS	Cromatografia Gás-Sólido
CGL	Cromatografia Gás-Líquido
Tz	Trennzahl
CGAR	Cromatografia Gasosa de Alta resolução
TBDMCl	Cloreto de <i>tert</i> -butildimetilsilano
HPLC	Cromatografia gasosa de Alta Resolução (High resolution Phase Liquid Chromatography)
RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear
¹³ C-RMN	Espectroscopia de Ressonância magnética nuclear núcleo de carbono
¹ H-RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear núcleo de próton
HSQC	Espectroscopia de Correlação Heteronuclear de Quantum Simples (Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy)
HMBC	Espectroscopia de Correlação Heteronuclear de Múltiplas Ligações (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy)
COSY	Espectroscopia de Correlação Homonuclear (Homonuclear Correlation Spectroscopy)
RES	Ressonância electrónica de spin
TIPNO	1-fenil-2-metilpropil-1,1-dimetil-2-nitróxido
IV	Espectroscopia de Infravermelho
¹⁵ P-RMN	Ressonância magnética de fósforo
TBAB	brometo tetra- <i>n</i> -butilamónio
THF	Tetrahidrofurano
TBAF	Fluoreto de tetra- <i>n</i> -butilamónio
HEPT	Altura equivalente do prato teórico
NOESY	Espectroscopia por efeito de overhauser nuclear
PM6	Parametrization Method 6
MOPAC	Molecular Orbital PACKage
LGA	Algoritmo genético Lamarckiano (Lamarckin Genetic Algorithm)
UV	Ultravioleta
TMS	trimetilsililo
FT	Transformada de Fourier

c.c.f

Cromatografia em camada fina

***Capítulo 1.* Introdução**

“Most natural organic products, the essential products of life, are asymmetric and possess such asymmetry that they are not superimposable on their image. This establishes perhaps the only well marked line of demarcation that can at present be drawn between the chemistry of dead matter and the chemistry of living matter.”^[1]

-Louis Pasteur

1.1 Quiralidade

Duas moléculas são denominadas por estereoisómeros se tiverem a mesma composição elementar e ordem de ligação dos átomos mas diferente arranjo espacial. A quiralidade trata-se da base do estereoisomerismo de inúmeras moléculas. O termo “quiral” foi definido como “não sobreponível com a sua imagem especular, aplicado a moléculas, conformações, bem como a objectos macroscópicos tais como cristais”^[2]. A quiralidade molecular foi pela primeira vez descrita por Louis Pasteur que em 1848 ao examinar cristais de tartarato de sódio (sal do natural (+)-ácido tartárico (AT)) que se depositavam nos barris durante o processo de envelhecimento do vinho, descobriu que estes eram hemi-hedrais e que continham um ambiente quiral. Pasteur examinou depois o sal de tartarato de sódio amónio de outro ácido relacionado obtido como produto secundário durante a produção de (+)-AT a partir do tártaro. Este produto, apesar da sua estrutura e propriedades físicas idênticas ao (+)-AT não apresentava rotação óptica. Esta substância conhecida então como ácido *para*-tartárico ou racémica cristalizava quando reagia com amónia formando cristais estruturalmente diferentes uns dos outros e mostravam, em solução, rotações ópticas iguais em magnitude absoluta, mas direcções opostas^[1].

A assimetria no átomo de carbono como base da quiralidade molecular foi proposta por Van't Hoff^[2] e Le Bel^[3] os quais defenderam que os quatro substituintes do carbono de moléculas isoméricas, se orientam no espaço cada um ocupando um vértice de um tetraedro com o carbono no centro, permitindo assim a distinção entre duas moléculas cuja única diferença se trata da orientação dos seus substituintes no espaço. Assim sendo, imagens especulares com orientação diferente dos substituintes no espaço não são sobrepostas, sendo então a actividade óptica relacionada com a presença de um carbono assimétrico na molécula^[3]. A definição de enantiómeros foi então proposta como pares de moléculas idênticas que são imagens especulares uma da outra, não sobreponíveis, que possuem propriedades físicas, químicas e espectroscópicas (na ausência de ambientes assimétricos) idênticas e que rodam o plano da luz polarizada em sentido contrário de um mesmo valor. Assim sendo um composto que admite um enantiómero será sempre quiral. Duas moléculas que não são imagem especulares uma da outra denominam-se por diastereoisómeros. Na **Figura 1.1** temos o exemplo dos enantiómeros (**a** e **b**, **c** e **d**) e dos diastereoisómeros (**a** e **c**, **a** e **d**, **c** e **b**) da lactona de whisky.

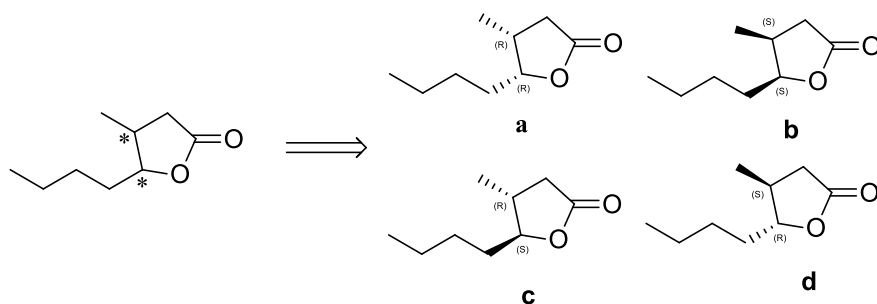


Figura 1.1. Enantiómeros e diastereoisómeros da lactona de whisky. **a e b**, **c e d** são enantiómeros e **a e c**, **a e d**, **c e b** diastereoisómeros.

1.2 Selectores quirais

1.2.1 Modelo de interação de três pontos

Dois enantiómeros têm exactamente as mesmas propriedades em ambiente anisotrópico logo, para separar dois enantiómeros são necessárias interacções com um selector isotrópico. A chave para separar enantiómeros passa então pela formação de complexos diastereoisómeros entre os enantiómeros e o selector quiral, o qual, poderá discriminar dois enantiómeros se tiver pelo menos três pontos de interacção entre o selector quiral e um dos enantiómeros (**Figura 1.2**).

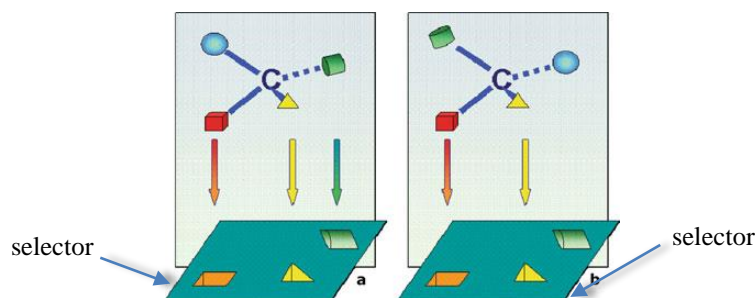


Figura 1.2. Modelo de interacção de três pontos. **a-** o enantiómero apresenta três grupos que coincidem perfeitamente com os três locais do selector. **b-** o enantiómero interage sómente com dois locais do selector^[4].

Na **Figura 1.2** é possível observar que na imagem da esquerda os substituintes da molécula quiral coincidem exactamente com os três locais do selector. No entanto já na sua imagem especular apenas existem dois pontos de interacção entre o selector e o enantiómero. Easson e Stedman^[4] foram os pioneiros na descoberta da relação desta teoria com a actividade fisiológica de fármacos dissimétricos no organismo. O modelo de interacção dos três pontos foi útil para a construção de fases estacionárias quirais (FEQ). Este modelo no entanto não é aplicável a todos os casos pois o encaixe numa cavidade pode corresponder a mais do que uma interacção. A partir de um ponto de vista estereoquímico, a repulsão é considerada uma interacção tão importante como a atracção, por exemplo, duas interacções podem ser repulsivas se a terceira interacção for forte o suficiente para promover a formação de pelo menos um complexo diastereomérico selector-ligando^[4-5].

O modelo de interação de três pontos trata-se de um modelo meramente geométrico. A interação maior entre o selector/ligando, é obtida através da força de Coulomb. A atracção entre as duas cargas eléctricas de sinais opostos é responsável pela elevada coesão dos sais. A interação (**Tabela 1.1**) pode ser atractiva bem como repulsiva se, no primeiro caso, as duas cargas tiverem cargas opostas, ou no segundo caso, tiverem a mesma carga. A interação de pontes de hidrogénio ocorre entre o átomo de hidrogénio positivamente polarizado de um grupo hidroxilo ou amina e o átomo de oxigénio (ou de azoto) de outro grupo hidroxilo (ou amina) negativamente polarizado. Estas interações podem ser muito fortes devido à proximidade do local negativo do átomo de hidrogénio empobrecido por alguma repulsão electrónica restante. O impedimento estereoquímico é repulsivo, muito forte e de curta extensão. As interacções $\pi - \pi$ são observadas em anéis aromáticos.

Tipos de interacção	Força	Direcção	Distância
Coulomb e eléctrica	Muito forte	Atractiva (+/-) ou repulsiva (+/+) (-/-)	Curto alcance
Ponte de hidrogénio	Muito forte	Atractiva	Longo alcance
Impedimento estéreo	De fraca a muito forte	Repulsiva	Curto alcance
Interacções $\pi - \pi$	Forte	Atractiva	Médio alcance
Ião-dipolo	Forte	Atractiva	Curto alcance
Dipolo-dipolo	Intermédia	Atractiva	Curto alcance
Dipolo-induzido dipolo	Fraca	Atractiva	Muito curto alcance
Dispersão de London ou forças de Van Der Walls	Muito fraca	Atractiva	Muito curto alcance

Tabela 1.1. Força, direcção e distância entre interacções moleculares^[4].

Quando os electrões π podem deslocalizar a carga ou doar electrões são denominados por π -doadores. As interacções $\pi - \pi$ envolvidas nos mecanismos de reconhecimento quiral são na maioria atractivas com o grupo π - aceitador ou π - ácido do enantiómero a interagir com o grupo π - doador ou π - básico do selector ou vice-versa. A interacção ião-dipolo, dipolo-dipolo e dipolo-induzido actuam com a molécula tendo um momento dipolar. A mais forte interacção dipolo-dipolo combina a força de Coloumb entre o ião e a carga parcial da molécula dipolar. As forças de London são responsáveis pelo efeito hidrofóbico característico, por exemplo, da cavidade interna da ciclodextrina.

1.3 Ciclodextrinas

Actualmente é complicado imaginar um mundo sem ciclodextrinas. Estas são usadas no dia-a-dia como constituintes de produtos de alimentares, cosméticos, têxteis, excipientes de produtos

farmacêuticos, entre outros. São estudadas na área da química supramolecular^[6], farmacêutica^[7], química analítica^[8] entre outras^[9].

1.3.1 A descoberta

Em 1891, A. Villiger, cientista francês, isolou a bactéria responsável pela digestão do amido^[10]. Nos resíduos de desperdício de álcool deixados após a produção de dextrinas do amido com fermento butírico^[10], cultura impura de bactérias denominadas por “*Bacillus amylobacter*”, observou a formação de substâncias cristalinas. Através da digestão do amido com *Bacillus amylobacter*, uma cultura impura contendo esporos de *Bacillus macerans* resistentes ao calor, isolou cerca de 3 g de uma substância cristalina de 1000 g de amido determinando a sua composição como $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ ^{[10],[11]}. Devido às suas semelhanças com a celulose (**Figura 1.3.a**), denominou estas substâncias de “cellulosine”^[10] pois tal como ela são razoavelmente resistentes à hidrólise ácida e não demonstravam propriedades redutoras. Cerca de 12 anos mais tarde um microbiologista austríaco, Franz Schardinger, ao estudar os microorganismos responsáveis pela deterioração dos alimentos, isolou o microorganismo responsável pela produção de duas substâncias cristalinas distintas quando cultivadas num meio de cultura contendo amido, e denominou a estirpe de bactéria como “*Bacillus macerans*”. Devido à semelhança da maioria das suas propriedades com as já conhecidas dextrinas (**Figura 1.3.b**), produtos parcialmente degradados do amido, denominou-as como α -ciclodextrina e β -ciclodextrina^[11].

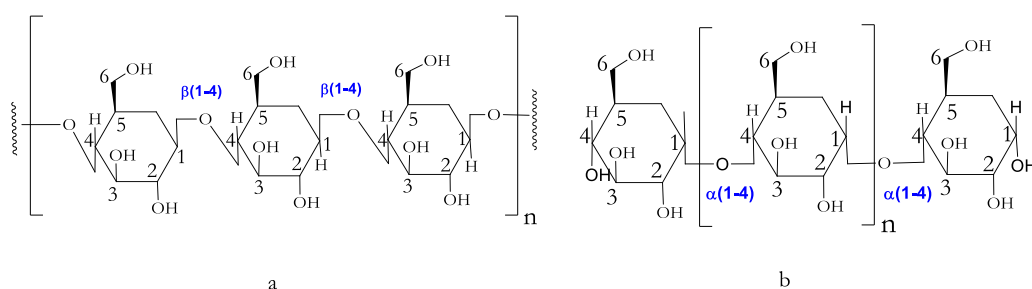


Figura 1.3. a-Polímero de celulose – unidades de glicose unidas por ligações glicosídeas $\beta(1-4)$, b- dextrina – polissacarídeo de baixo peso molecular obtida através da hidrólise ácida do amido com unidades de glicose unidas por ligações glucosídeas $\alpha(1-4)$.

1.3.2 A estrutura

Na segunda metade da década de 1930 Freudenberg e os seus colaboradores elucidaram a estrutura cíclica destas duas ciclodextrinas^[11] e chegaram à conclusão de que a dextrinas cristalinas de Schardinger seriam formadas a partir de unidades de maltose contendo apenas ligações glucosídeas α -1,4 a partir de estudos de trabalhos publicados por Karrer, Miekeley entre outros, onde foi estudada a hidrólise enzimática, acetólise com brometo acetil e a hidrólise de ciclodextrinas permetiladas. Mais tarde em 1948-50 deu-se a descoberta da γ -ciclodextrina^[11]. A caracterização completa bem como as propriedades físicas e químicas foram estudadas exaustivamente através de estudos enzimáticos levados a cabo por D. French bem como F. Cramer e colaboradores^[11]. Este último focou o seu estudo na

capacidade de formação de complexos de inclusão das ciclodextrinas dando a esta nova classe de compostos supramoleculares inúmeras vantagens. Devido às propriedades únicas da hidrofilia da zona exterior e hidrofobia da cavidade interior da CD, é possível formar complexos de inclusão não-covalentes oferecendo assim uma vasta variedade de vantagens físicas e químicas^[7].

1.3.3 Propriedades físicas e químicas das ciclodextrinas

Através de artigos publicados naquela época nomeadamente por D. French e pela monografia de Thomas e Steward^[12] definiu-se então, que as ciclodextrinas tratavam-se nada mais nada menos do que oligossacáridos cíclicos que contêm seis (α -ciclodextrina), sete (β -ciclodextrina) e oito ou mais (γ -ciclodextrina) unidade de D(+)-glucopirranose com α -(1,4) ligações glucosídicas. Cada unidade de glucopirranose (quiral) das ciclodextrinas possui uma conformação em cadeira rígida encontrando-se ligadas em C-1 e C-4. O arranjo dos monómeros na CD pode ser visualizado como um anel, um cilindro ou mais precisamente um cone truncado com exterior hidrofílico^[13]. Tanto no estado sólido como em solução a conformação macrocíclica das ciclodextrinas, corresponde a uma estrutura cónica invertida, toroidal, onde os grupos hidroxilo secundários situados nos átomos de carbono C-2 e C-3 se encontram localizados na base superior ao passo que os grupos hidroxilos primários nos átomos de carbono C-6 se encontram localizados na base inferior. A ausência de grupos hidroxilos livres orientados para o interior da cavidade faz com que este apresente um carácter hidrofóbico (**Figura 1.4**). A estrutura macrocíclica rígida das ciclodextrinas provém da formação de pontes de hidrogénio intramoleculares estáveis entre os grupos hidroxilos secundários^[9].

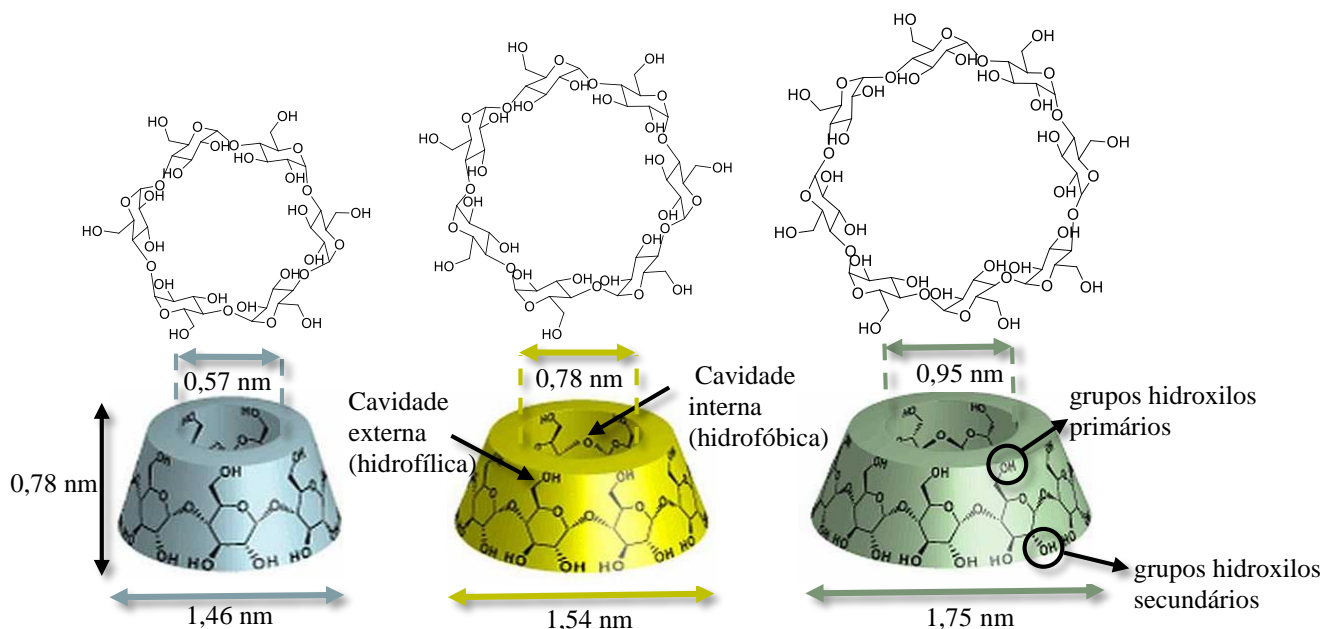


Figura 1.4. Representações 3D das ciclodextrinas α , β e γ .

As ciclodextrinas são também conhecidas como ciclo-amiloses, ciclomaltoses, nomeadamente a ciclomaltohexaose, a ciclomaltoheptaose e a ciclomalto-octaose, ou dextrinas Schardinger e provêm

da reacção intramolecular de transglicosilação resultado da degradação do amido através da enzima glucanotransferase (CGTase)^[12]. A assimetria molecular das ciclodextrinas provém do facto dos ciclo-oligómeros conterem somente unidades de D-glucopirranose. A degradação do amido pela enzima glucanotransferase favorece preferencialmente a formação dos enantiómeros dextrorrotatórios das ciclodextrinas^[12]. O maior interesse nas ciclodextrinas encontra-se relacionado com a sua capacidade de formar complexos de inclusão denominada pela química do hospedeiro/hóspede (*host/guest*).

1.3.4 Fenómeno de inclusão da ciclodextrina

No fenómeno de inclusão na ciclodextrina apenas uma molécula interage com a cavidade da ciclodextrina de modo a ficar aprisionada. O encapsulamento protege a molécula do analito contra o ataque de várias moléculas reactivas. Uma molécula diz-se encapsulada na ciclodextrina quando preenche totalmente ou parcialmente a sua cavidade hidrofóbica^[13].

Devido ao interior apolar (hidrofóbico) das ciclodextrinas a formação de complexos de inclusão com compostos orgânicos é bastante favorecida (interacções hidrofóbicas). Estas interacções são principalmente causadas por efeitos de entropia. Apesar da formação do complexo hospedeiro/hóspede ser acompanhado por uma diminuição da entropia, a saída de moléculas de solvente da cavidade de ciclodextrina pode resultar num substancial aumento de entropia^[13].

Devido à natureza hospedeiro/hóspede das ciclodextrinas outras contribuições são consideradas nomeadamente o encaixe por alterações conformacionais da molécula hóspede e/ou da ciclodextrina (ajuste induzido) durante o processo de inclusão molecular, pontes de hidrogénio, interacções de Van Der Waals (forças de dispersão de London e interacções de dipolo-dipolo induzido), interacções de transferência de carga, interacções electrostáticas, saída de moléculas de solvente da cavidade da ciclodextrina com ganho de entropia e alívio da tensão do anel do macrociclo. Apesar da sua capacidade de encapsulamento, as ciclodextrinas apresentam limitações nomeadamente em relação ao tamanho da molécula hóspede e à polaridade dos grupos funcionais presentes nas moléculas hóspedes^[7].

1.4 Ciclodextrinas funcionalizadas

1.4.1 Ciclodextrinas permetiladas

Quando as ciclodextrinas são funcionalizadas, ocorre torção das estruturas dos seus derivados. Ao funcionalizar as ciclodextrinas com grupos metilo essas torções são minimizadas podendo então ser capazes de formar complexos de inclusão. As ciclodextrinas permetiladas formam complexos de inclusão os quais são mais estáveis para determinados hóspedes em solução aquosa do que os complexos correspondentes de ciclodextrinas não substituída^[14].

Sendo os grupos hidroxilos, na posição 2, 3 e 6 da CD, metilados as propriedades estruturais e físicas tornam-se muito diferentes das CDs nativas. A cavidade das ciclodextrinas cristalizadas das α -, β -, γ - CDs é fechada contrariamente às ciclodextrinas nativas, causada pela rotação “interna” dos grupos O(6)-CH₃ (**Figura 1.5**). Na α -ciclodextrina esta clausura requer que duas unidades de glucose

diametralmente opostas se encontrem fortemente inclinadas ao passo que no caso da β -ciclodextrina, um dos resíduos da glucose é invertido a partir da conformação normal 4C_1 a 1C_4 conformação em cadeira a qual é única para a CD. A γ -CD-permetilada adopta uma maior distorção conformacional onde, em dois locais diametralmente opostos, glucoses adjacentes têm orientação *trans* e não *cis* como normalmente observado em macrocíclos de CDs^[14,15].

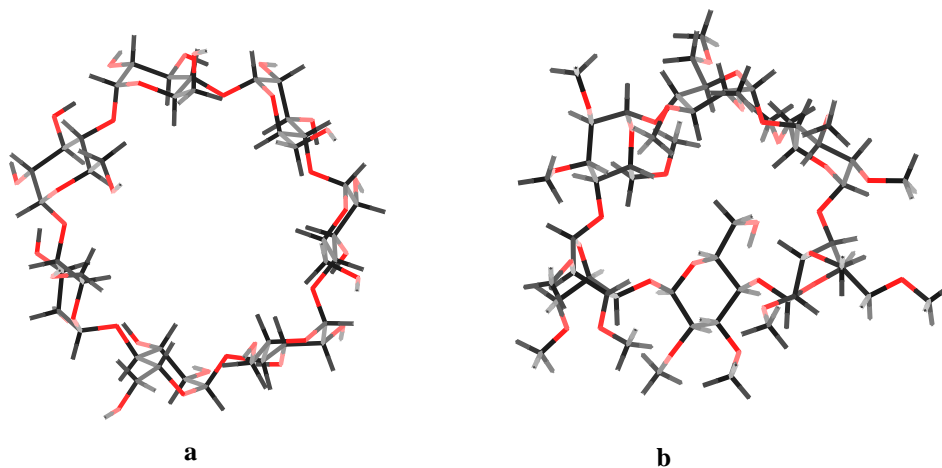


Figura 1.5. Estruturas 3D da β -ciclodextrina nativa (a) e β -ciclodextrina permetilada (b), optimizadas pelo programa MOPAC.

1.5 Cromatografia gasosa

A cromatografia é denominada pela IUPAC como: “um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma estacionária (fase estacionária) ao passo que a outra (fase móvel) move-se numa direcção definida”^[16]. Os vários processos cromatográficos são denominados de acordo com o estado físico da fase móvel, no caso de esta ser líquida é denominado por cromatografia líquida (CL) no caso de ser gasosa denominada por cromatografia gasosa (CG).

Desde a sua descoberta a cromatografia gasosa tornou-se numa técnica indispensável na separação e análise de compostos voláteis.

Na cromatografia gasosa os componentes de uma amostra vaporizada são separados como consequência da sua partição entre uma fase móvel (gás de arraste) e uma fase estacionária (líquida ou sólida) imobilizada dentro de uma coluna. A amostra vaporizada é introduzida na coluna cromatográfica. Nesta, a solubilidade de cada componente na fase gasosa depende da pressão de vapor a qual é por sua vez dependente da temperatura da coluna e da afinidade entre o composto e a fase estacionária. Diferenças nas pressões de vapor levam à partição dos analitos entre a fase móvel e a fase estacionária. Como as moléculas se movem continuamente e rapidamente entre as duas fases será a diferença no tempo de retenção em cada fase que afecta a partição. Este tipo de processo cromatográfico denomina-se eluição^[17].

Na **Figura1.6** é possível observar o processo cromatográfico em CG em que as partições de

Direcção do fluxo na fase

Detector

Cromatograma

Injecção

Concentração do soluto na fase móvel

Concentração do soluto na fase estacionária

Tempo de corrida

Fracção da fase estacionária

0 1

A

B

O analito A tem uma maior distribuição na fase móvel sendo que percorre a coluna mais rapidamente do que o analito B o qual fica mais tempo retido na fase estacionária^[17]. O sinal de *output* do detector dá origem ao cromatograma mostrado na **Figura1.6**.

O factor de capacidade (k') trata-se da velocidade com que um composto migra ao longo da coluna calculado através da **Equação 1**.

$$k' = \left(\frac{t_r - t_m}{t_m} \right)$$

Idealmente o factor de capacidade de um analito para efeitos de cálculo de eficiência (n-pratos teóricos) será entre $5 \leq k' \leq 8$.

O factor de separação trata-se da razão dos factores de capacidade para a substância A e B medidos sob condições semelhantes (**Equação 2**).

$$\alpha_{B/A} = \frac{k'_B}{k'_A}$$

Equação 2. Factor de separação, k'_A – factor de capacidade do analito A. k'_B factor de capacidade do analito B.

A técnica de GC é assim uma técnica de separação dos componentes de misturas (amostras) com o objectivo de obter informação acerca das suas composições químicas e quantidades sendo portanto usada qualitativamente e quantitativamente^[18].

De acordo com o estado da fase estacionária a cromatografia gasosa é subdefinida como cromatografia gás-sólido (CGS) caso a fase estacionária seja sólida, ou cromatografia gás-líquido (CGL) caso a fase estacionária seja líquida.

1.5.1 Cromatografia gás-líquido

O conceito de cromatografia gás-líquido foi enunciado pela primeira vez em 1941 por Martin e Synge^[19] publicação onde introduziram o conceito de cromatografia de partição líquido-líquido e estabeleceram pela primeira vez o conceito “altura equivalente a prato teórico”^[19]. Ambos defenderam também que um melhor desempenho de separação seria obtido em cromatografia líquida usando pequenas partículas e pressões elevadas e que a fase móvel líquida usada até à altura poderia ser substituída por um gás^[19-21]. No entanto o primeiro aparelho comercial só viria a surgir em 1954^[17].

A **Figura 1.7** representa um cromatógrafo gasoso onde uma amostra líquida ou gasosa é injectada através de um septo para o interior de uma câmara de injeção que é aquecida de forma a promover a volatilização dos analitos. O vapor é arrastado através da coluna (normalmente coluna capilar com comprimento entre 10-30 metros revestida com a fase estacionária) por meio de um gás de arraste (He, N₂ ou H₂) e os analitos separados fluem para o detector, o qual mede a quantidade de amostra gerando um sinal eléctrico cuja resposta é analisada num computador. A taxa de fluxo do gás de arraste é cuidadosamente controlada para assegurar reprodutibilidade nos tempos de retenção e minimizar o ruído do detector^[17-22].

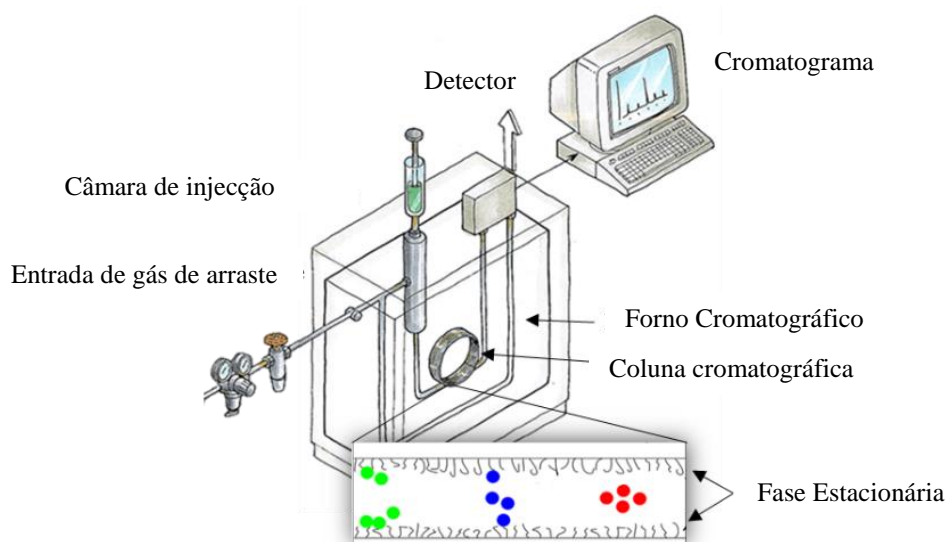


Figura 1.7. Esquema de um cromatógrafo gasoso.

1.5.2 Fase estacionária

A escolha da fase estacionária líquida baseia-se na regra “semelhante dissolve semelhante”. Colunas apolares (por exemplo: dimetilpolissiloxano)^[17] são adequadas para solutos apolares (ex: hidrocarbonetos saturados, olefílicos, aromáticos, etc.); as de polaridade intermédia ((Cianopropilfenil)_{0,14} (dimetil)₈₆polissiloxano)^[17] são adequadas para solutos de polaridade intermédia (por exemplo: éteres, cetonas, aldeídos, ésteres, aminas terciárias, compostos nitro, nitrilos) e colunas fortemente polares (as que contêm grupos como –CN, –CO e OH por exemplo) a solutos fortemente polares (álcoois, ácidos, aminas, hidroxí-ácidos, ácidos polipróticos, polifenóis)^[17].

Com o envelhecimento da coluna, a fase estacionária decompõe-se promovendo o arrastamento da cauda dos picos, normalmente designado por “*tailing*”, produzindo no cromatograma uma subida da linha de base que se denomina por sangramento da coluna. Entende-se por sangramento de coluna cromatográfica a perda da fase estacionária, ou seja, quando a fase estacionária não adsorve à coluna de sílica. A temperaturas elevadas é normalmente observado sangramento da coluna que dá origem a um elevado ruído do detector diminuindo assim a razão de sinal/ruído para o analito sendo também uma potencial fonte de contaminação do detector.

As propriedades desejáveis de uma fase líquida imobilizada numa coluna cromatográfica gás-líquido incluem baixa volatilidade (idealmente o ponto de ebulição de um líquido deverá ser pelo menos 100°C maior que a temperatura máxima de operação da coluna), estabilidade térmica; inércia química e características de solvente apropriadas para que o valor de k (factor de capacidade) e de α (factor de separação) para os solutos a serem resolvidos estejam dentro de uma faixa adequada^[17].

1.5.3 Colunas capilares

As colunas de sílica (SiO₂) fundida (**Figura 1.8a**) são muito utilizadas hoje em dia devido à sua flexibilidade, facilidade de manuseamento e à facilidade em produzir colunas de diâmetro fino para alta

resolução^[17]. As colunas são revestidas com um composto termoplástico capaz de resistir até 450°C, suportar e proteger a coluna da humidade atmosférica, a poli-amida (**Figura 1.8b**).

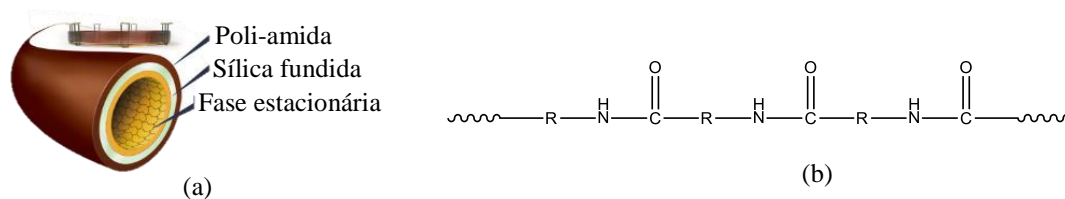


Figura 1.8. (a) Coluna de sílica fundida. (b) estrutura da poli-amida.

1.5.4 Mecanismos de separação

A discriminação enantiomérica envolvendo um hóspede racémico e uma molécula enantiomericamente pura é descrita pela equação de Gibbs-Helmholtz (**Equação 3**) correspondendo à soma das diferenças de entalpia e entropia na complexação dos enantiómeros com a fase estacionária quiral^[23,24].

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ) = -\Delta_{R,S}(\Delta H^\circ) + T\Delta_{R,S}(\Delta S^\circ)$$

Equação 3. Equação de Gibbs-Helmholtz^[24]. $\Delta_{R,S}(\Delta G^\circ)$ - diferença de energia livre de Gibbs do complexo diastereomérico formado entre o enantiómero e a fase estacionária.

A discriminação enantiomérica resulta então na diferença de energia livre de Gibbs da associação diastereomérica entre os enantiómeros e a fase estacionária quiral (selector quiral). Na **Figura 1.9** é possível observar uma maior energia necessária para a formação do complexo **a** e menor para a formação do complexo **b**. As diferenças de estabilidade destes complexos de transição dão origem a diferentes tempos de retenção dos enantiómeros na coluna. Como podemos observar na **Figura 1.9** o enantiómero que forma o complexo menos estável elui primeiro (enantiómero *S*) e o mais estável fica retido mais tempo na fase estacionária (enantiómero *R*).

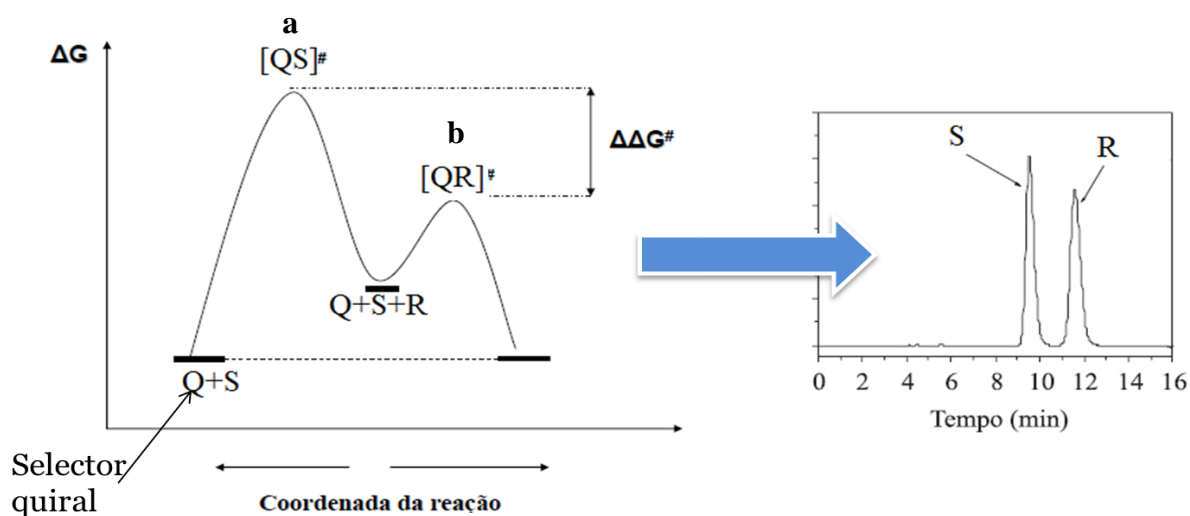


Figura 1.9. Coordenada reaccional para a formação de complexos diastereoméricos entre os enantiómeros e a fase estacionária.

1.5.5 Método de caracterização das colunas cromatográficas

1.5.5.1 Quantificação da eficiência da coluna

O tempo morto (t_m) trata-se do tempo em que as espécies que não são retidas pela fase estacionária percorrem a coluna. Tempo de retenção, (t_r) trata-se do tempo necessário a partir da injeção da mistura injectada na coluna para que o componente alcance o detector. O tempo necessário para o soluto percorrer exclusivamente o comprimento da coluna (sem efeito t_m) é denominado por tempo de retenção ajustado (**Equação 4**).

$$t'_r = t_r - t_m$$

Equação 4. Tempo de retenção ajustado. t_r - tempo de retenção do analito, t_m - tempo morto.

A coluna cromatográfica trata-se de uma série de estágios separados em que ocorre o equilíbrio entre o analito, a fase estacionária e a fase móvel. Prato teórico é então definido como cada estágio de equilíbrio. O número de pratos teóricos pode ser calculado através das seguintes equações:

$$\begin{array}{cc} N = 16 \times \left(\frac{t_r}{W_b} \right)^2 & N = 5,54 \times \left(\frac{t_r - t_m}{W_{1/2}} \right)^2 \\ \text{(a)} & \text{(b)} \end{array}$$

Equação 5. Cálculo do número de pratos teóricos. t_r - tempo de retenção, t_m - tempo morto, W_b -largura do pico na base, $W_{1/2}$ - largura do pico a meia altura^[22].

Quanto maior for o número de pratos teórico maior será a eficiência da coluna^[22].

Na **Figura 1.10** temos o exemplo de um cromatograma a partir do qual podemos tirar informações acerca do tempo de retenção dos analitos testados, largura do pico, altura e volume de retenção quantificando assim a eficiência de uma coluna cromatográfica.

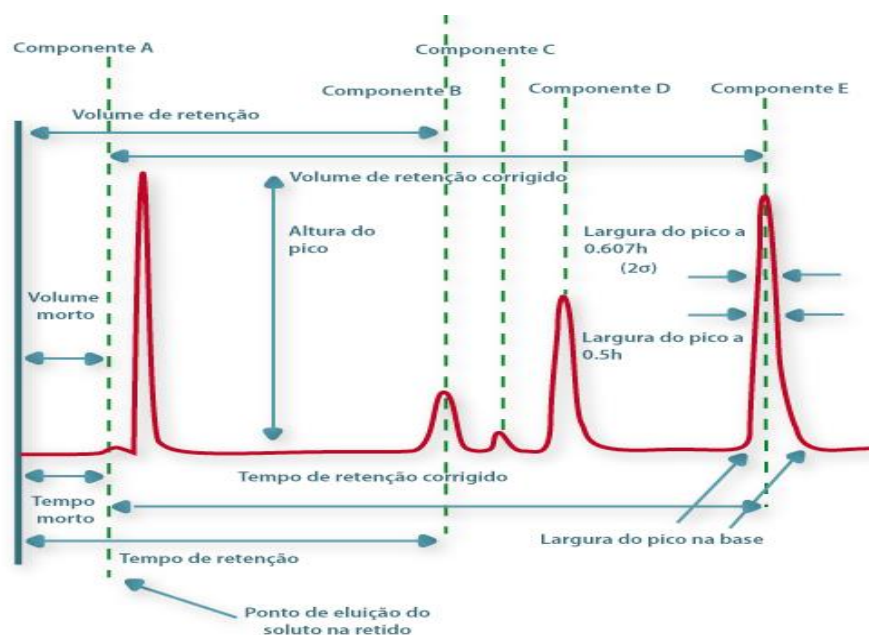


Figura 1.10. Exemplo de um cromatograma (adaptado de labvirtual.eq.uc.pt).

Hoje em dia a eficiência de separação trata-se apenas de uma das muitas peças de informação obtidas a partir do teste de Grob.

1.5.5.2 Teste de Grob

O método desenvolvido por K.Grob Jr para caracterização das colunas cromatográficas é usado universalmente tanto pelos fabricantes das colunas como pelos utilizadores das mesmas. A principal vantagem do método de Grob é a de que fornece informação quantitativa sobre quatro importantes aspectos da qualidade da coluna nomeadamente: eficiência de separação, actividade adsorptiva, acidez/basicidade e espessura do filme da fase estacionária. A avaliação das colunas preparadas diferentemente deve revelar aspectos positivos e negativos fazendo com que a coluna seja mais adequada para determinado propósito ao invés da outra^[25].

- Programa com rampa de temperatura

Os testes de adsorção por corridas cromatográficas de temperaturas isotérmicas demonstrarão os primeiros picos a serem eluídos em melhores condições do que os picos com tempos de retenção superior. Tais corridas dificultam a obtenção de informação comparativa ao passo que as corridas de temperatura programada promovem retenções semelhantes para todos os componentes da mistura^[25].

O uso de programas com rampa de temperatura elimina a maioria dos efeitos de impureza (por ex: partículas do septo no injector). Os componentes da mistura teste são assim retidos atingindo a coluna com atraso evitando o “*tailling*” dos picos cromatográficos como os obtidos em corridas de programa de temperatura isotérmicas^[26].

- Informação obtida no teste ^[25,27]

Cada composto da mistura tem a sua função. Os hidrocarbonetos apresentando picos simétricos permitem determinar a eficiência da coluna, através do cálculo do número de pratos teóricos, eficácia da injeção ou problemas no sistema como erros na instalação da coluna.

Os alcoóis mostram as interações de pontes de hidrogénio para com a fase estacionária ou coluna (possíveis interações com grupos silanol). O 2,6-dimetilfenol, diciclohexamina e o ácido 2-etilhexanóico são usados para medir as interações ácido/base. Para medição destas interações são usados compostos cujos grupos funcionais se encontram impedidos estereoquímicamente de modo a evitar adsorção por pontes de hidrogénio para não complicar a interpretação da interação. Os aldeídos, por sua vez, identificam as adsorções que não se dão por ligações de hidrogénio. Por último os ésteres metílicos servem para detectar irregularidades no recobrimento da coluna e para a eficiência da coluna determinada pelo cálculo do número de separação (TZ-Trennzahl) (**Tabela 1.2**). O número de separação TZ corresponde ao número de picos (de igual largura) que pode ser incluído entre dois hidrocarbonetos homólogos. Quanto maior o número, maior a resolução para os dois picos^[28]. Os valores de TZ são calculados através da diferença de t'_r dos picos obtidos para os ésteres metílico E10, E11, E12 devido à similaridade na largura a meia altura dos mesmos. Para obtenção deste valor é calculada a diferença entre os tempos de retenção de E10/E11 e E11/E12 e a largura a meia altura dos picos dos pares homólogos como se observa na **Equação 6**.

$$TZ = \frac{t'_{r2} - t'_{r1}}{w_{1/2}^{(1)} + w_{1/2}^{(2)}} - 1$$

Equação 6. Cálculo do número de separação Tz. t'_{r2} -tempo de retenção ajustado do éster 2, t'_{r1} -tempo de retenção ajustado do éster anterior 1 e $w_{1/2}$ – largura dos picos a meia altura.

Para determinar a percentagem da altura do pico é traçada uma linha (correspondente a 100%) ligando os o máximo dos picos dos analitos não-adsorventes, alcanos, ésteres metílicos, como é possível observar na **Figura 1.11**.

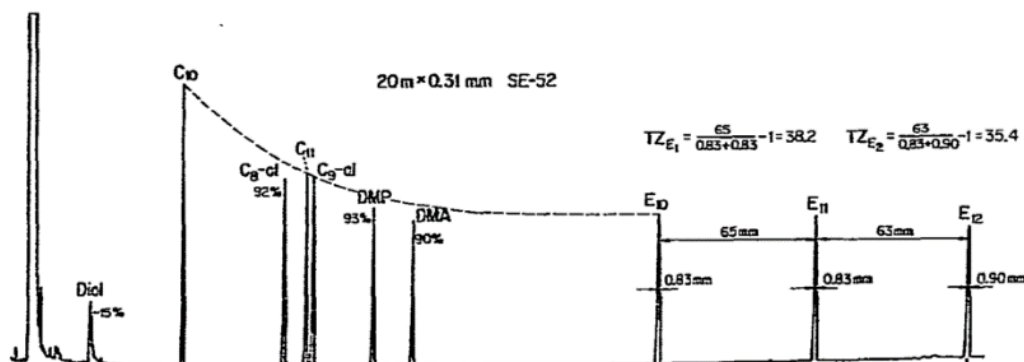


Figura 1.11. Teste cromatográfico realizado para uma coluna com a fase estacionária SE-52^[25].

Substância	Sigla	Quantidade dissolvida em 20mL de solvente (mg)	Função
Decanoato de metilo	E10	42,3	Eficiência de separação – cálculo do número de separação - Tz
Undecanoato de metilo	E11	41,9	
Dodecanoato de metilo	E12	41,3	
n-Decano	C10	28,3	Eficiência da coluna, nº de pratos teóricos
n-Undecano	C11	28,7	
1-Octanol	ol	35,5	Detecção de locais de formação de pontes de hidrogénio com os grupos silanol
Nonanal	Al	40	Detecção de adsorção dos aldeídos saturados que não seja por pontes de hidrogénio
2,3-Butanodiol	D	53	Detecção de locais de formação de pontes de hidrogénio com os grupos silanol
2,6-Dimetilanilina	A	32	Caracterização ácido/base da superfície pela altura ou área do pico
2,6-Dimetilfenol	P	32	
Diciclohexilamina	am	31,3	
Ácido 3-etil-hexanóico	S	38	

Tabela 1.2. Componentes de uma mistura de Grob e respectiva função^[27].

1.5.6 Método de Rohrschneider-McReynolds^[29]

O método de Rohrschneider-McReynolds baseia-se no facto das forças intermoleculares serem aditivas podendo ser obtidas através da contribuição de diferentes interacções individuais. A interacção de grupos funcionais polares é reflectida através da diferença dos seus índices de retenção numa fase estacionária polar ou apolar. A polaridade da coluna dependerá não só da fase estacionária como também do tipo de substância analisada. Definindo a fase estacionária esqualano como referência de fase apolar, as interacções individuais podem ser caracterizadas através da comparação entre tempos de retenção

obtidos para cinco compostos com diferentes polaridades, que representam uma interacção individual ou uma combinação de interacções, com a fase estacionária esqualano e com a fase estacionária de trabalho. O benzeno (**Figura 1.12a**) mede as interacções primárias dispersivas de um fraco aceitador de protões, o 1-butanol (**Figura 1.12b**) mede as propriedades de orientação tanto com doadores como com aceptadores de protões, a 2-pentanona (**Figura 1.12c**) mede as interacções dipolares de um aceitador de electrões, o 1-nitropropano (**Figura 1.12d**) mede as interacções dipolares fracas de um fraco aceitador de protões e por fim, a piridina (**Figura 1.12e**) mede as interacções dipolares fracas de um forte aceitador de protões.

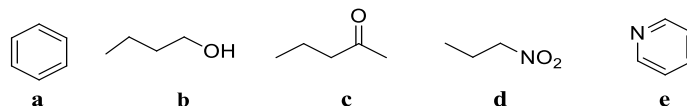


Figura 1.12. Moléculas usadas na caracterização de colunas através do método de Rohrschneider-McReynolds. Benzeno (a), 1-butanol (b), 2-pentanona (c), 1-nitropropano (d), piridina (e).

O facto de algumas das moléculas teste serem demasiado voláteis e o facto de estas terem um tempo de retenção muito próximo (nalguns casos igual) ao tempo morto, a eficácia do método é reduzida.

- Índice de retenção

O primeiro sistema de índice de retenção usado foi desenvolvido por Kovatz^[30] no qual é usado um sistema de n-alcanos como padrão. O número de carbonos de cada n-alcano é multiplicado por 100 como por exemplo (heptano 700, octano, 800, etc). Em corridas de temperatura isotérmica são obtidos os tempos de retenção dos diferentes alcanos e o valor de I calculado como se observa na **Equação 7**.

$$I = 100z + 100x \frac{\log(tr'_a) - \log(tr'_z)}{\log(tr'_{z+1}) - \log(tr'_z)}$$

Equação 7. Índice de retenção de Kovatz. z- número de átomos de carbono do alcano de peso molecular menor, tr'_a – tempo de retenção da molécula-teste, tr'_z -tempo de retenção do alcano de peso molecular menor, tr'_{z+1} - tempo de retenção do alcano de peso molecular maior

A **Equação 8** trata-se de uma simplificação introduzida por Van Den Dool e Kratz onde são usados os tempos de retenção directos em vez dos termos logarítmicos usados por Kovatz(exemplo de cromatograma observado na **Figura 1.13**, página 19).

$$I = 100z + \frac{100 \times tr'_a - tr'_z}{tr'_{z+1} - tr'_z}$$

Equação 8. Índice de retenção de Kovatz. z- número de átomos de carbono do alcano de peso molecular menor, tr'_a – tempo de retenção da molécula-teste, tr'_z -tempo de retenção do alcano de peso molecular menor

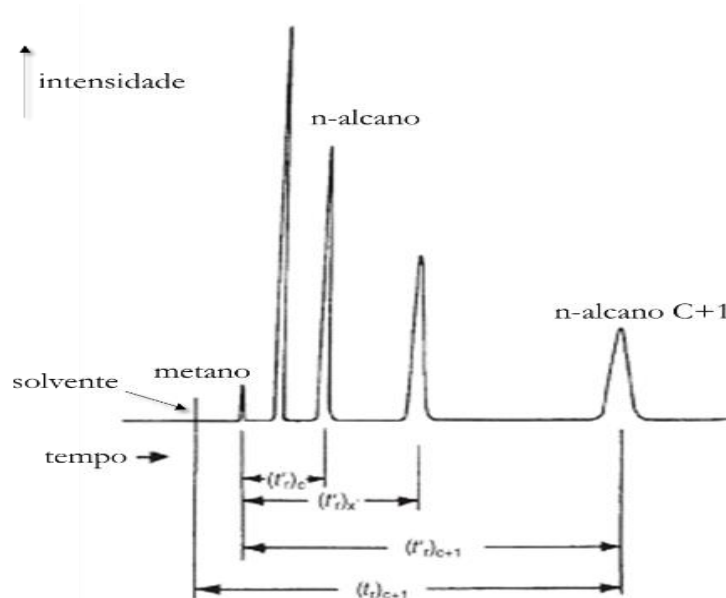


Figura 1.13. Determinação do índice de Kovatz para a substância X por interpolação entre os dois n-alcenos (figura adaptada de Handbook of GC/MS: Fundamentals and applications)^[83].

1.5.7 Cromatografia gasosa quiral (CGQ)

Dada o elevado número de investigações sobre o fenómeno de quiralidade molecular, o uso da cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) na análise de substâncias opticamente activas trata-se de uma técnica analítica indispensável^[17].

A cromatografia com uma fase estacionária quiral (opticamente activa) trata-se de um método para separação de enantiómeros. Nesta, um agente quiral é imobilizado sobre a superfície de um suporte sólido. Uma das formas de interacção do agente quiral e do soluto dá-se em virtude de forças de atracção tais como as existentes entre as ligações de hidrogénio e dipolo-dipolo. Outra forma de interacção o soluto pode simplesmente ajustar-se em cavidades quirais na fase estacionária de modo a formar complexos de inclusão. A complexação preferencial entre o agente de resolução quiral (fase estacionária) e um dos estereoisómeros resulta na separação dos enantiómeros^[31].

A discriminação enantiomérica de derivados das ciclodextrinas depende fortemente da cavidade do tamanho da ciclodextrina, do grau de substituição dos substituintes nos grupos hidroxilos primários C(6)-OH e nos grupos hidroxilos secundários C(2)-OH e C(3)-OH das unidades de glucose da ciclodextrina^{[15],[32]}. A aplicação de métodos computacionais para estudo da formação de complexos intermoleculares tem sido objecto de intensa pesquisa durante a última década. Nos últimos 20 anos é recorrente o recurso a estudos de modelagem molecular na separação cromatográfica de enantiómeros^[33]. A discriminação quiral tem sido investigada por vários métodos de modelagem molecular como por exemplo mecânica molecular, mecânica dinâmica e modelo de Monte Carlo^[34], a formação de diferentes complexos de inclusão, usando como moléculas hospedeiras as ciclodextrinas e como moléculas hóspedes os enantiómeros a separar. No entanto ainda não foram estabelecidas directrizes nem realizado um estudo de comparação entre a previsão computacional e os dados obtidos experimentalmente para a previsão da existência ou observação de enantioselectividade em fases estacionárias quirais compostas por derivados de ciclodextrinas.

1.5.8 Ciclodextrinas em cromatografia gasosa quiral

O fenómeno de inclusão é vastamente estudado em métodos de separação nomeadamente em cromatografia. A estabilidade relativa das ciclodextrinas na inclusão de compostos é governada por diversos factores tais como: ligações por pontes de hidrogénio, interações hidrofóbicas, efeito de solvatação etc. Quando um centro quiral se encontra próximo da entrada da cavidade ou tem um substituinte orientado numa posição específica na qual possa formar uma interacção com os grupos hidroxilos presentes na entrada da cavidade, é favorecida a possibilidade de reconhecimento quiral^[24].

1.5.8.1 Ciclodextrinas não funcionalizadas

A primeira aplicação das ciclodextrinas como fases estacionárias quirais em cromatografia capilar gasosa remonta a 1983 com o trabalho de Koscielski e colaboradores^[35] no qual foi usada uma mistura de α -ciclodextrina nativa e formamida como fase estacionária tendo sido obtida separação enantiomérica de α e β -pineno com factor de separação relativamente elevado para o α -pineno ($\alpha=1,73$). No entanto o tempo de vida da fase estacionária foi relativamente curto. Este estudo foi continuado para a separação de regioisómeros de xilenos e etilbenzenos nas mesmas condições de trabalho^[36].

Modificações estruturais têm sido investigadas de modo a facilitar a formação de complexos de inclusão. Durante as últimas décadas Armstrong e colaboradores desenvolveram inúmeras fases estacionárias contendo ciclodextrinas funcionalizadas investigando também os fenómenos de reconhecimento enantiomérico que defenderam ser promovido por fenómenos de formação de complexos de inclusão^[36-38].

1.5.8.2 Ciclodextrinas funcionalizadas

Os três grupos hidroxilos das unidades de glucopiranoose da ciclodextrina diferem na sua reactividade devido aos diferentes pKa's dos protões dos grupos hidroxilos e devido a diferenças no impedimento estereoquímico. O grupo hidroxilo no átomo de carbono C-2 é mais ácido (pKa =12-13) do que nos átomos de carbonos C-3 ($13,5\pm 2$) e C-6 (pKa=15-16)^[40]. O grupo hidroxilo no átomo de carbono C-6 em cada unidade de glucopiranoose é aquele que se encontra menos impedido estereoquimicamente permitindo a diferenciação dos grupos hidroxilos que podem sofrer substituição regiosselectiva, permitindo que as ciclodextrinas sejam transformadas em derivados mono, bi, e tri-funcionalizados provocando alteração nas suas propriedades físicas e químicas^[40,41]. Um dos exemplos desta aproximação é a utilização de fases estacionárias acetiladas como a 2,6-di-*O*-pentil-3-trifluoroacetil- γ -ciclodextrina (nome comercial: Astec® Chiraldex® G-TA)^[43], obtida através da introdução de trifluoro-acetilo na posição 3 de cada unidade de glucopiranoose. Esta fase tem excelente selectividade para álcoois, amins como derivados de acilo, amina álcoois, halogéneos (Cl> Br> F), aminoácidos, ácidos carboxílicos, lactonas, furanos e piranos. Outros exemplos de fases estacionárias constituídas por ciclodextrinas funcionalizadas são as fases estacionárias da linha Lipodex® a 2,6-n-pentil-3-acetil- α -ciclodextrina (Lipodex® B), a 2,6-n-pentil-3-acetil- β -ciclodextrina (Lipodex® D) e a 2,6-n-pentil-3-metil- γ -ciclodextrina (Lipodex® G)^[43].

Apesar da discriminação enantiomérica ocorrer devido a fenómenos de inclusão na CD também é possível ocorrer discriminação enantiomérica com moléculas polares presumindo-se assim que a mesma pode também ocorrer na cavidade exterior da ciclodextrina como observado em fases estacionárias, como a 2,6-di-*O*-pentil-3-trifluoroacetil- β -ciclodextrina^[44].

Em muitos casos diferenças mínimas estruturais nas moléculas hóspedes podem ter efeitos dramáticos no reconhecimento quiral.

- Ciclodextrinas sililadas no átomo de oxigénio em C-6

O primeiro trabalho pioneiro na introdução de grupos protectores sililados em ciclodextrinas foi realizado por Aicholz e colaboradores^[45] com a introdução do grupo *tert*-butildimetilsililo (TBDMS) nas diferentes ciclodextrinas usando o reagente de sililação *N*-TBDMS-*N*-trifluoroacetamida. Seria de esperar que a introdução do grupo protector TBDMS- no grupo hidroxilo em C-6 da ciclodextrina tivesse um impacto negativo na interação do analito com a cavidade inferior do cone da ciclodextrina devido à influência deste na conformação da ciclodextrina. No entanto, foi demonstrado que a existência deste grupo promoveria a eficiência da discriminação quiral através da sua utilização como fase estacionária em cromatografia gasosa quiral. Tal poder-se-á dever à influência do grupo protector na conformação da ciclodextrina ou pelo facto da introdução de substituintes altamente hidrofóbicos promover o aumento de solubilidade destes compostos em fases estacionárias apolares reforçando assim a eficiência de pico necessária para uma boa resolução de linha de base ^[45].

- Ciclodextrinas permetiladas

Quando as ciclodextrinas são funcionalizadas, ocorre torção das estruturas dos seus derivados. No entanto ao serem funcionalizadas com grupos metilo essas torções podem ser minimizadas permitindo assim o fenómeno hospedeiro-hóspede entre a ciclodextrina e a molécula hóspede.

Juvancz e colaboradores^[46] e mais tarde Venema e Tolsma^[47] demonstraram a capacidade de discriminação quiral a elevadas temperaturas, temperatura ambiente e a baixas temperaturas das fases estacionárias β -ciclodextrinas permetiladas (a hexaquis(2,3,6-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose) em colunas capilares para cromatografia gasosa de alta resolução. No entanto estas ciclodextrinas funcionalizadas apresentavam um problema: elevado ponto de fusão o que levou a que fossem utilizadas duas estratégias para permitir que estas ciclodextrinas fossem usadas como fases estacionárias:

- Dissolução das ciclodextrinas permetiladas em polioxanos moderadamente polares combinando assim a enantioselectividade das ciclodextrinas modificadas com as propriedades únicas do polioxano.
- Funcionalização das ciclodextrinas com grupos que baixassem o ponto de fusão da mesma como é o caso das fases estacionárias constituídas por ciclodextrinas com cadeias de hidrocarbonetos (como por exemplo as fases estacionárias Lipodex ®^[43]).

A preferência de um dado enantiómero na inclusão na cavidade da ciclodextrina face à exclusão de outro na mesma pode levar a um factor de separação (α) elevado e consequente eficiente separação

enantiomérica no entanto, existem casos em que uma forte associação molecular nem sempre é um pré-requisito para uma eficiente discriminação quiral sendo também comuns os casos em que uma fraca interação selector/ligando, como é o caso dos hidrocarbonetos saturados, pode levar a uma apreciável discriminação quiral^[23].

1.6 Docking Molecular

O *docking* molecular trata-se de um método computacional associado, à mecânica molecular, para prever a interação não covalente entre duas moléculas denominadas por macromolécula e ligando^[48]. O *docking* molecular pode ser definido como um problema de otimização o qual descreve a orientação de melhor encaixe ou “*best-fit*” de um ligando que se liga a uma macromolécula específica de interesse. O processo computacional de busca de um ligando que é capaz de caber geometricamente e energeticamente no “local de ligação” ou “local-activo”^[48] da macromolécula é denominado por acoplamento molecular. Uma molécula é caracterizada por um par (A;B) no qual A representa um conjunto de átomos e B representa um conjunto de ligações entre pares de átomos. A informação usada para computações cinéticas e de energia é associada de acordo com cada átomo e ligações. Cada átomo carrega informação padrão como por exemplo o seu raio de Van Der Walls. Cada ligação depende: (i) do comprimento da ligação associada à distância entre os centros dos átomos (ii) o ângulo de ligação, associado ao ângulo entre duas ligações consecutivas (iii) se a ligação é rotacional ou não^[48]. Desde que os comprimentos de ligação e ângulos não afetem significativamente a forma de uma molécula, é prática comum considerá-los fixos^[48].

O aspecto chave da modelagem molecular trata-se do cálculo da energia de conformações e interações. Esta energia pode ser calculada com uma vasta gama de métodos que variam desde a mecânica quântica às funções de energia puramente empíricas^[44].

Existem três elementos-chave no *docking* tais como: a representação das estruturas, a procura no espaço conformacional e o *ranking* de possíveis soluções. O *docking* simula as interações entre a superfície das moléculas, logo, o principal problema trata-se da representação da superfície das mesmas. A superfície é então descrita através de modelos matemáticos tais como descritores de formas geométricas ou através de uma grelha pode também envolver tratamento estático ou dinâmico da estrutura da molécula (macromolécula) podendo esta ser rígida ou flexível^[48].

O programa **AutoDock**^[50] utiliza modelagem cinemática no qual o ligando começa o processo de procura aleatoriamente fora da ligação e através da exploração de valores para translações, rotações e dos seus graus de liberdade internos até alcançar a conformação de ligação mais estável. A distinção entre uma boa ou má conformação “ancorada” é levada a cabo por uma função de *scoring*. A função de *scoring* usada pelo **Autodock**^[50] é denominada por algoritmo genético Lamarckiano^[51]. Nesta simulação uma população inicial é gerada aleatoriamente sendo os indivíduos codificados através de suas posições no local activo da macromolécula. Durante a evolução cada indivíduo é avaliado segundo um critério de ajuste (função objetivo), os indivíduos mais aptos são selecionados sofrendo alterações devido aos

operadores de mutação e recombinação. Na etapa seguinte, é realizada uma busca local, onde os melhores indivíduos são selecionados e sofrem pequenas alterações nas suas posições. Esta mudança é passada para a geração seguinte. O procedimento anterior é repetido até que o critério de paragem seja satisfeito^[51].

1.7 Líquidos iónicos

1.7.1 A origem

A origem dos líquidos iónicos remonta ao século XIX quando Friedel e Crafts nas suas reacções de alquilação e acilação repararam que quando pequenas quantidades de cloreto de alumínio anidro eram adicionadas ao cloreto amilo sendo obtido um líquido, conhecido como óleo vermelho, com duas fases. Somente um século depois químicos japoneses demonstraram que esse mesmo óleo vermelho consistia num catião aromático alquilado e no anião cloro-alumínio^[52].

1.7.2 O que são

Os líquidos iónicos são substâncias formadas exclusivamente ou quase exclusivamente por iões, razão pela qual exibem elevada condutividade. São líquidos tradicionalmente conhecidos como sais fundidos os quais têm elevado ponto de ebulição, e pontos de fusão ou temperaturas de transição vítreas abaixo dos 100°C^[53].

Uma substância encontra-se no estado líquido quando as interacções entre as espécies constituintes são mais fortes do que as interacções existentes no estado gasoso porém, mais fracas do que aquelas existentes no estado sólido. Devido a este balanço energético, a maioria dos líquidos encontra-se constituído por moléculas neutras dado que a presença de espécies carregadas determina a existência de interacções iónicas, normalmente suficientemente fortes para conduzir a substância ao estado de agregação sólido. Como consequência a solidificação do líquido iónico dá-se a temperaturas mais baixas. Em alguns casos como acontece com longas cadeias alifáticas é observado um estado de transição vítreo em vez do ponto de fusão. A elevada interacção iónica entre estas substâncias resulta numa pressão de vapor negligenciável (a não ser que ocorra decomposição), numa substância não inflamável, e com elevada estabilidade térmica, mecânica e electroquímica do produto. Líquidos iónicos que são líquidos à temperatura ambiente são denominados de “*room-temperature ionic liquids-RTILs*”^[53].

1.7.3 Líquidos iónicos quirais (*Chiral Ionic Liquids – CILs*)

Na gama dos líquidos iónicos destacam-se os que apresentam quiralidade (*CILs- Chiral ionic liquids*). O estudo destes é realizado em diversas áreas como na síntese assimétrica^[54], na área dos biossensores^[55], na área da cromatografia gasosa^[38,55] onde têm demonstrado resultados promissores como fases estacionárias, devido à sua resistência térmica e pressão de vapor muito reduzida bem como ao facto de exibirem uma grande selectividade para um elevado número de moléculas polares e apolares, entre outras.

1.7.3.1 Fases estacionárias quirais iônicas

Welton Armstrong, e colaboradores foram os pioneiros na utilização de líquidos iônicos como fases estacionárias quirais (FEQ). O líquido iônico quiral avaliado continha o catião *N,N*-dimetilfedriníum no qual a configuração dos dois centros quirais foi variada de modo a dar origem aos enantiômeros (1*S*,2*R*)-(+)-*N,N*-dimetilfedrinio, (1*R*,2*S*)-(-)-*N,N*-dimetilfedrinio e (1*S*,2*S*)-(+)-*N,N*-dimetilfedrinio com o contra-íão *bis*[(trifluorometil)sulfonyl]imida. As FEQ sintetizadas exibiam enantiosselectividade para quatro classes de analitos: álcoois quirais, sulfóxidos quirais, epóxidos quirais, e aminas acetiladas quirais sendo assim observada a importância da configuração do centro quiral na enantiosselectividade. Um selector quiral pode também ser dissolvido num líquido iônico sendo consequentemente revestido na coluna capilar. Nesta aproximação foi usado o composto aquiral cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio para dissolução das fases estacionárias β -ciclodextrina dimetilada e permetilada. A separação cromatográfica obtida destas duas colunas foi comparada com duas colunas comerciais com fase estacionária de β -ciclodextrina permetilada e β -ciclodextrina dimetilada dissolvidas em polidimetilsiloxano. Os autores observaram perda de enantiosselectividade para a maioria das misturas racêmicas testadas o que sugeriu a ocupação do catião imidazole na cavidade da ciclodextrina impedindo assim a inclusão do analito na mesma [38].

Melhores resultados foram obtidos posteriormente posteriormente por Daniel W. Armstrong e colaboradores [57] com o uso de fases estacionárias constituídas por ciclodextrinas iônicas dissolvidas em líquidos iônicos (**Figura 1.14**). Estas exibiram uma eficiência de separação enantiomérica sete vezes superior e com melhor estabilidade térmica. Tal foi proposto para reduzir o acesso das moléculas da matriz do líquido iônico na cavidade da ciclodextrina através da interação da zona iônica da ciclodextrina com o solvente também iônico por solvatação.

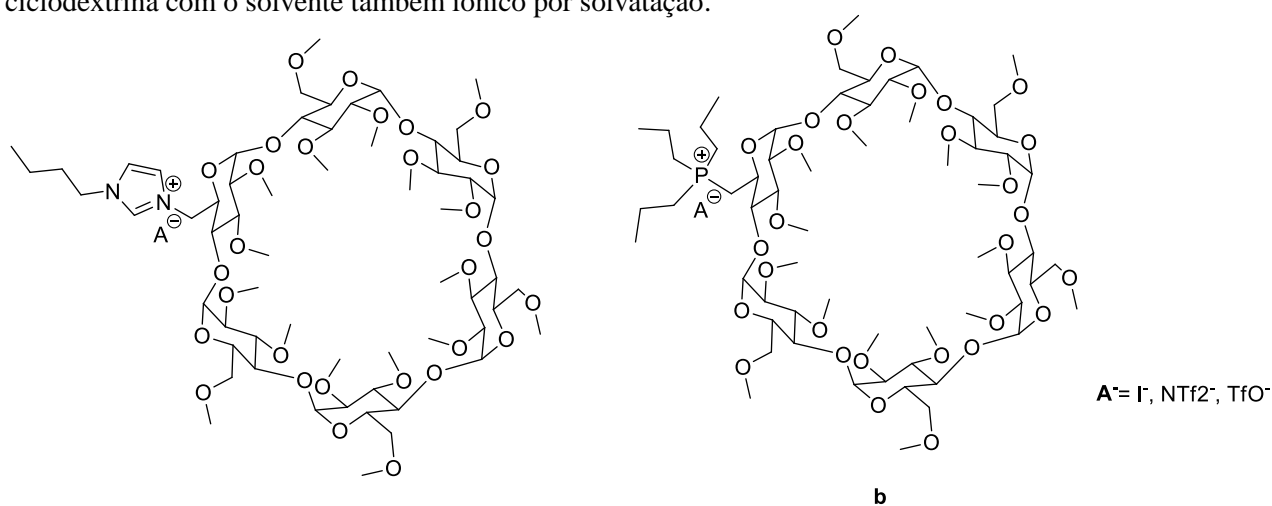


Figura 1.14. Estrutura dos líquidos iônicos triflato, iodeto ou bis(trifluorometilsulfonyl)imida β -ciclodextrina-6-(butilimidazólio) (**a**) e da β -ciclodextrina-6-(tripropilfosfônio) (**b**) usadas no estudo descrito [57].

1.7.3.1.1 Ciclodextrinas iônicas

Recentemente M. Pereira e colaboradores ^[58] testaram as β -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio), mono-6-(1-vinil-1*H*-imidazol-3-io), e as α -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio) e mono-6-deoxi-6-(1-vinil-1*H*-imidazol-3-io) (**Figura 1.15**) com contra-íão triflato, sintetizadas a partir de uma estratégia de protecção/desprotecção^[59], como fases estacionárias quirais, não tendo sido necessário recorrer ao uso de um solvente como era descrito nos estudos de fases estacionária constituídas por ciclodextrinas, realizados até à data^{[37],[38],[43],[60]}. Na coluna revestida com a fase estacionária β -ciclodextrina permetilada mono-6-deoxi-6-(piridínio), apesar da baixa eficiência de coluna obtida (330 pratos teóricos/metro de coluna para uma solução contendo uma mistura de hidrocarbonetos de C₈-C₂₀) foi observada discriminação enantiomérica de misturas racémicas do epóxido de estireno, de lactonas, e de hidroxi-éteres tendo sido obtido um maior factor de separação ($\alpha=1,5$) para a mistura racémica de lactona de whisky com programa de temperatura isotérmica a 120°C e no caso da mistura racémica de laurato de mentilo, com programa de temperatura isotérmica de 140°C. No entanto não se observou discriminação enantiomérica de outras famílias de compostos como hidrocarbonetos, cetonas, ácidos carboxílicos, aminas e amidas.

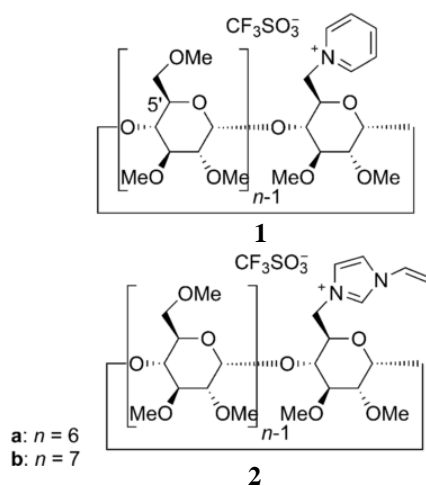


Figura 1.15. α -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio) (**1a**), mono-6-deoxi-6-(1-vinil-1*H*-imidazol-3-io) (**2a**) com contra-íão triflato, β -ciclodextrinas permetiladas mono-6-deoxi-6-(piridínio) (**1b**) e mono-6-(1-vinil-1*H*-imidazol-3-io) (**2b**)^[58].

O insucesso obtido na discriminação quiral das ciclodextrinas iônicas poderá estar relacionado com a inclusão ou bloqueio do catião ou do anião do líquido iónico numa das cavidades da ciclodextrina reduzindo assim a possibilidade de formação de complexos de inclusão entre o analito alvo e o selector quiral (ciclodextrina), fenómeno este que pode ser essencial para o reconhecimento quiral de algumas moléculas^{[57],[61]} (**Figura 1.16**).

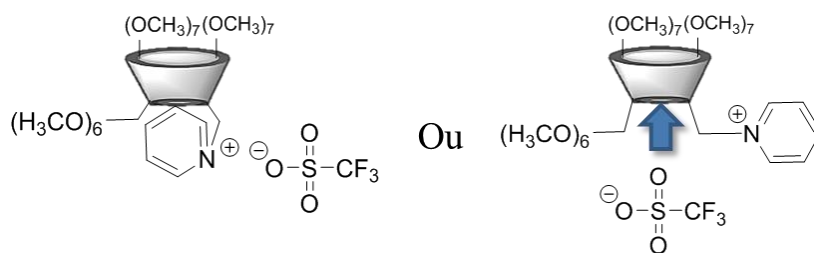


Figura 1.16. Possível inclusão/bloqueio do catião ou anião do líquido iónico na cavidade da ciclodextrina.

O facto do fragmento piridínio se encontrar próximo da cavidade da ciclodextrina pode promover a inclusão ou o bloqueio de uma das cavidades da ciclodextrina pelo fragmento ou até mesmo pela superfície de suporte. A solução para este problema poderá ser a adição de um espaçador no átomo de oxigénio no átomo de carbono C-6 de uma unidade de glucopirranose, aumentando a distância do fragmento piridínio em relação à cavidade da ciclodextrina.

-Ciclodextrinas iónicas com espaçadores

A utilização de ciclodextrinas com espaçadores em cromatografia líquida quiral de alta resolução (HPLC) é amplamente usada para discriminação quiral de misturas racémicas[62]–[64]. Compostos derivados de ciclodextrinas são usados em discriminação quiral por HPLC via ligação química na sílica gel através de espaçadores. É atribuído por Y. Wang e colaboradores.^[65] que a eficiência de discriminação quiral das fases estacionárias constituídas por derivados de ciclodextrinas deve-se ao espaçador que mantém o selector quiral (ciclodextrina) longe da superfície de suporte. Berthod e colaboradores^[66] defendem que o comprimento do espaçador ligado ao selector quiral facilita o acesso do soluto e a ocorrência de discriminação quiral. Em oposição Lai e Ng^[62] não observaram diferença significativa nas habilidades de separação de ciclodextrinas ligadas com diferentes espaçadores. Baseado nestas investigações contraditórias decidimos testar a eficiência da α e β ciclodextrinas iónicas e contra-íão triflato com espaçador (**Figura 1.17**) sintetizadas no laboratório, como fases estacionárias quirais em cromatografia gasosa.

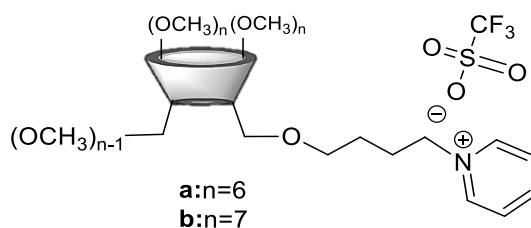


Figura 1.17. Líquidos iónicos derivados da α (a) e β (b) ciclodextrinas.

***Capítulo 2.* Discussão de Resultados**

2.1 Previsão Computacional de discriminação quiral

Com o objectivo de prever computacionalmente a ordem de eluição dos enantiómeros testados em cromatografia gasosa quiral com a fase estacionária derivada da α -ciclodextrina (**Figura 1.15**, página 25) e posteriormente prever a gama de temperatura necessária para a separação eficiente enantiomérica foi realizado um estudo computacional recorrendo a um método de modelagem molecular (Docking) e a um método semi-empírico de mecânica quântica (PM6) usando como ligando (molécula hóspede) os compostos enantioméricos da **Figura 2.1** e como receptor (hospedeiro) o líquido iónico derivado da α -ciclodextrina (**Figura 1.15a**, página 25).

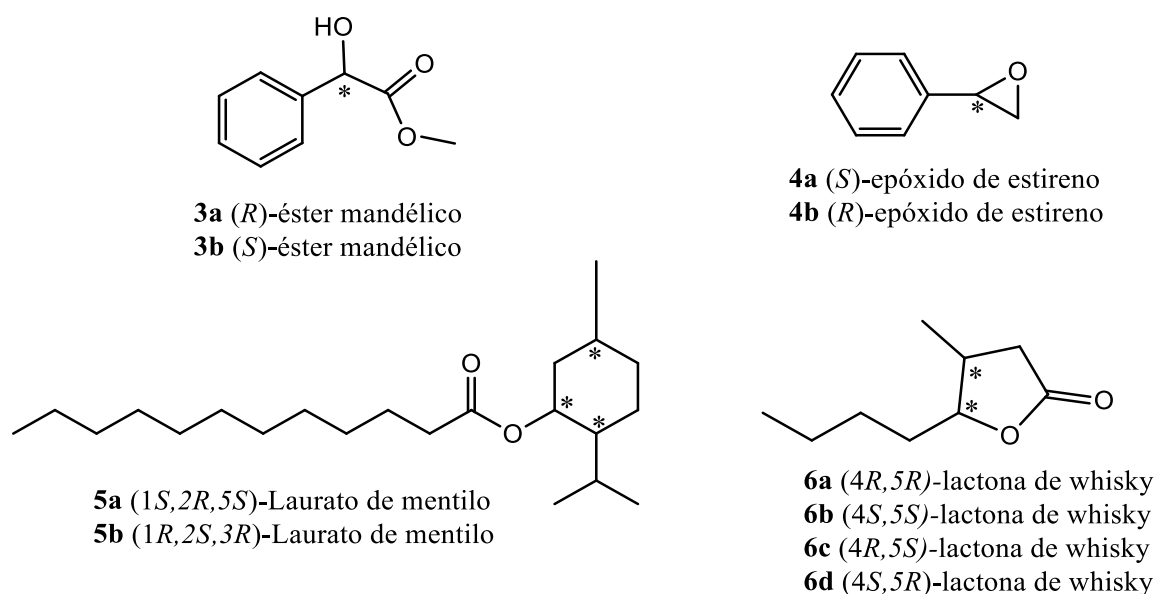


Figura 2.1. Compostos usados para testar a eficiência de separação cromatografia usando como fase estacionária triflato de α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada com o contra-íon triflato.

Os resultados obtidos do *docking* molecular a partir do programa **Autodock**^[50] e a partir do método semi-empírico **PM6** são apresentados na **Tabela 2.1**.

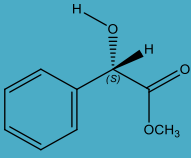
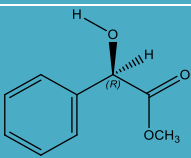
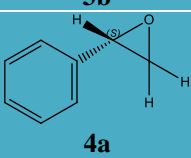
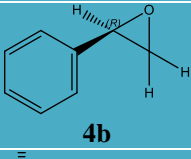
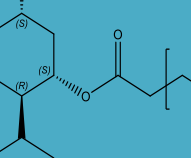
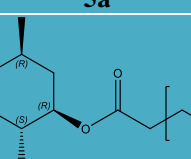
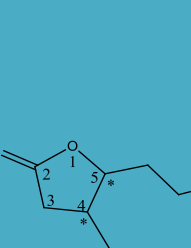
Molécula-teste	tr' obtido experimentalmente (min)	Autodock ΔG (kJ/mol)	Autodock $\Delta\Delta G$ (kJ/mol)	PM6 ΔG (kJ/mol)	PM6 $\Delta\Delta G$ (kJ/mol)
 3a	4,54	-24,242	-0,13	-185010,69	$3,412 \times 10^{10}$
 3b	4,67	-22,651		-341178,3x10 ⁴	
 4a	5,58	-22,190	-0,38	-1779254,29	4,65
 4b	5,72	-22,609		-1779254,29	
 5a	101,34	-18,715	-0,712	-2018001,09	-15,49
 5b	104,27	-18,003		-2017985,605	
 6a-6d	3,22, 3,45; 4,12; 4,38	-23,153	-0,377	-182850,78	$-1,5359 \times 10^3$
		-23,150		-183004,37	
		-23,530	0,042	-4838780,87	$-1,3462 \times 10^6$
		-23,572		-183006,52	

Tabela 2.1. Representação dos tempos de retenção de cada molécula-teste na fase estacionária α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada (**Figura 1.15a**) e dos valores de energia mínima obtida para os complexos enantiômero/CD através de estudos de Docking e de Mecânica Quântica. tr'= tempo de retenção ajustado. ΔG =Energia mais estável obtida pelo programa Autodock 4, $\Delta\Delta G=\Delta G_S-\Delta G_R$, valores positivos e negativos representam a ordem de eluição. ΔG PM6= Mínimo de energia obtido usando o método semi-empírico PM6. O contra-íon triflato presente na fase estacionária das colunas testadas não foi considerado para previsão computacional.

Quanto mais estável for o complexo de inclusão α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada/enantiómero maior será a retenção do enantiómero na fase estacionária.

Analisando a **tabela 2.1** só é possível observar a concordância da previsão de ordem de eluição face aos enantiómeros do epóxido de estireno ($t_R > t_S$, $\Delta G_R < \Delta G_S$). A diferença de energia livre do complexo hóspede/hospedeiro encontra-se na gama -0,712 a 0,042 kJ.mol⁻¹. Esta diferença é insignificante dado que o erro padrão de simulações obtidas através do programa **Autodock**^[50] é de 10,467 kJ.mol⁻¹ [33]. A diferença insignificante nos valores de energia livre de complexação para os enantiómeros *R* e *S* poder-se-á dever ao facto do programa **Autodock**^[50] assumir irrealisticamente a ciclodextrina em questão como uma estrutura rígida não contando com as alterações conformacionais essenciais para a inclusão eficiente dos enantiómeros na ciclodextrina. Dada a falta de coerência entre os resultados obtidos no **Autodock**^[50] e os resultados obtidos experimentalmente foi realizado um estudo computacional de mecânica quântica onde a partir das configurações dominantes de cada complexo enantiomérico obtido pelo **Autodock**^[50] foi realizada a sua optimização pelo método semi-empírico, **PM6**, de modo a prever a discriminação quiral através da diferença de energia optimizada entre os dois complexos diastereoméricos.

De acordo com a tabela apresentada é possível observar a concordância da previsão de separação enantiomérica através da mecânica quântica com os tempos de retenção obtidos para os enantiómeros do éster mandélico ($t_R > t_S$) e para o epóxido de estireno ($t_R > t_S$) embora a diferença de minimização de energia do último seja muito reduzida (4,65 kJ/mol) comparada com as restantes energias. No caso dos enantiómeros laurato de mentilo (+) e (-) respectivamente não existe concordância com a previsão computacional das energias de minimização do complexo hóspede-hospedeiro com os tempos de retenção obtidos experimentalmente pois o modelo prevê energia de complexação mais estável para o laurato de mentilo (+) prevendo-se a ordem de eluição $t_S > t_R$, o que não se observou experimentalmente.

Não foi possível testar os enantiómeros da lactona de Whisky separadamente em cromatografia gasosa tendo sido apenas testada uma mistura racémica com os quatro enantiómeros. Pela previsão do método de Mecânica Molecular a ordem de eluição seria a seguinte $t_{4S,5S} < t_{4R,5R} < t_{4S,5R} < t_{4R,5S}$.

No programa **Autodock**^[50] foi possível observar as diferentes interações dos diferentes enantiómeros para com a fase estacionária (página 25, **Figura 1.5-1a**). No complexo diastereomérico formado entre a CD iónica e os enantiómeros do éster mandélico (**Figura 2.2**) é possível observar discriminação quiral onde se observa, no caso do enantiómero *R* do éster mandélico, a preferência do anel benzénico pela cavidade interna da ciclodextrina e a existência de interações de ponte de hidrogénio entre o hidrogénio do grupo hidroxilo e o átomo de oxigénio no átomo de carbono C-2 da CD. No complexo formado entre a CD iónica e o enantiómero *S* o anel benzénico não se encontra dentro da cavidade da ciclodextrina pelo que é possível observar discriminação enantiomérica dos dois enantiómeros face à CD iónica.

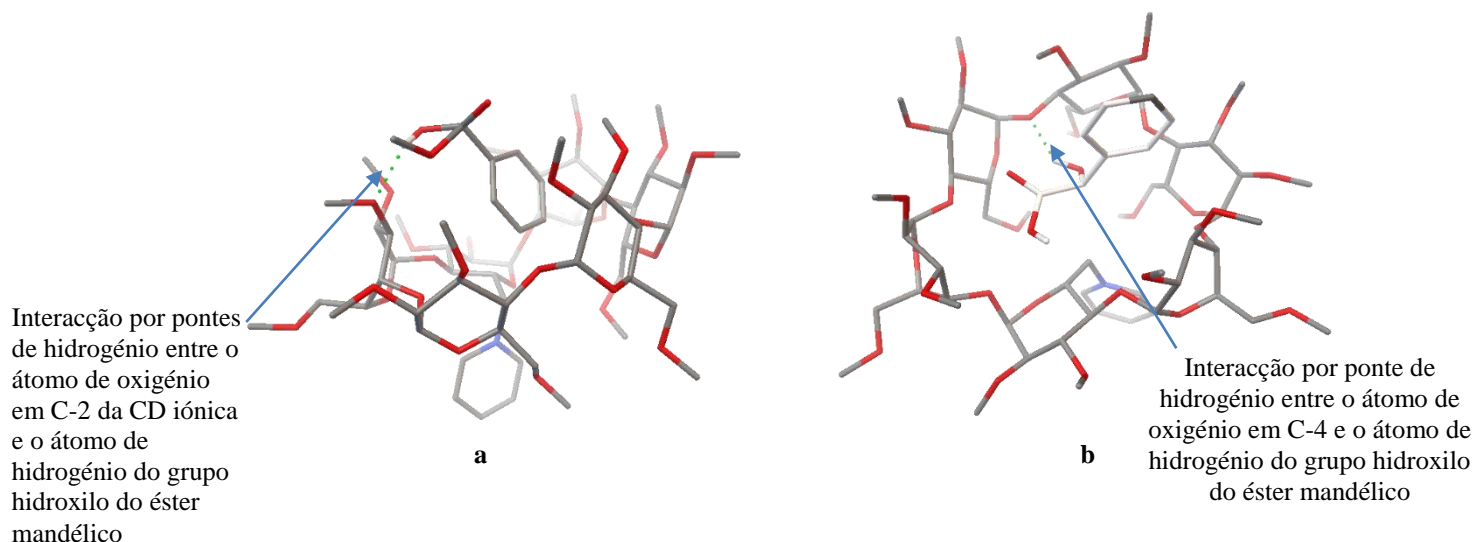


Figura 2.2 a-Complexo de energia mais baixa da CD iónica **1a** com o (*R*)-éster mandélico (**3a**) e b-da CD iónica **1a** com o (*S*)-éster mandélico (**3b**)

Através da **Figura 2.3** é possível observar a preferência do anel benzénico do epóxido de estireno pela cavidade interna da ciclodextrina. A molécula hóspede gera então interações apolar-apolar com a ciclodextrina em questão, estabilizando a sua estrutura anelar formando um complexo com estado energético mais baixo. É de notar a existência de uma interação não covalente entre o oxigénio do epóxido de estireno e o átomo de oxigénio no átomo de carbono C-3 da CD iónica.

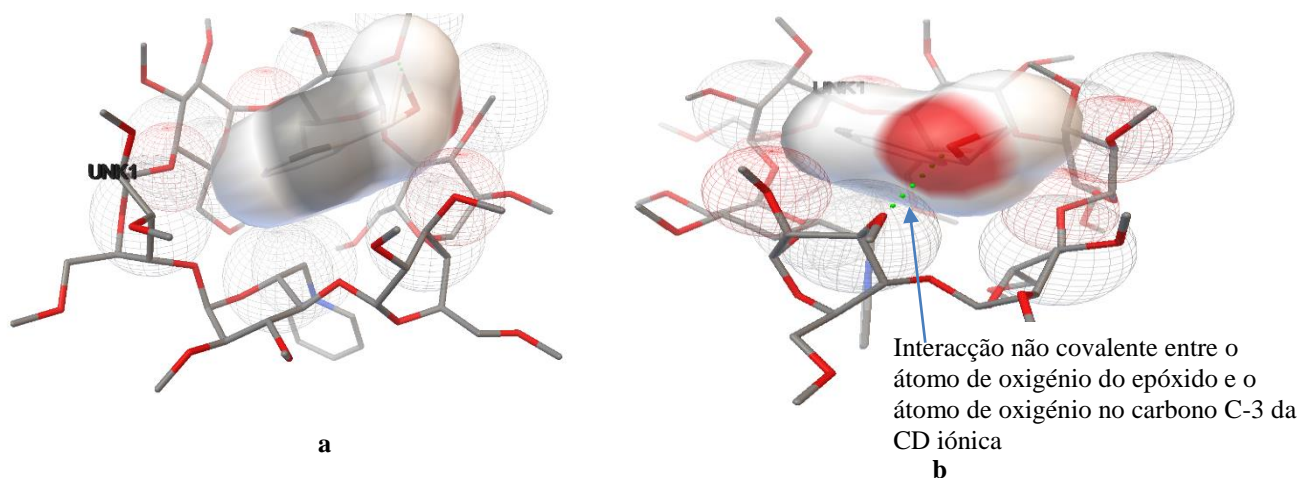


Figura 2.3. a-Complexo de energia mais baixa da CD iónica **1a** com o epóxido de estireno *R* (**4b**) e b-da CD iónica **1a** com o epóxido de estireno *S* (**4a**)

No caso do laurato de mentilo (**Figura2.4**) seria de esperar que a cadeia alifática tivesse afinidade para a cavidade apolar da ciclodextrina, no entanto tal não se verificou, observando-se apenas inclusão da zona polar do laurato de mentilo e não da zona apolar como seria de esperar. (**Figura2.4**)

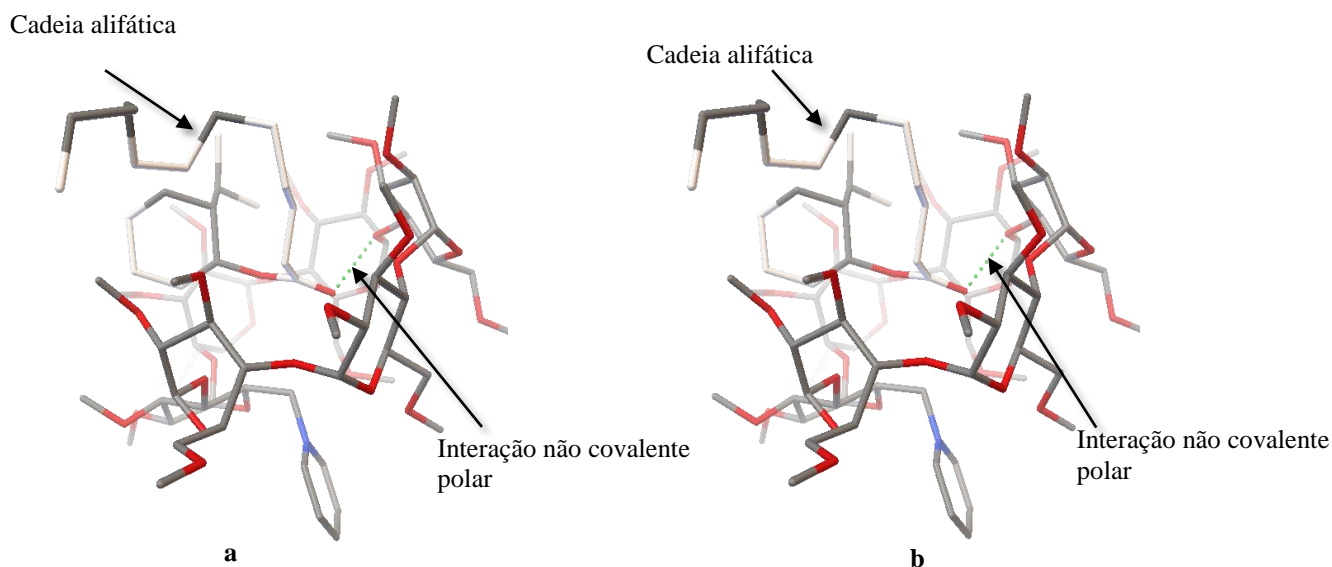


Figura 2.4 a-Complexo de energia mais baixa da CD iônica **1a** com o laurato de mentilo 1*S*,2*R*,5*S*, (**5a**) e b-da CD iônica **1a** com o laurato de mentilo 1*R*,2*S*,5*R* (**5b**).

No estudo da formação do complexo diastereomérico entre a lactona de whisky 4*R*,5*R*, 4*S*,5*R*, 4*S*,5*S* e 4*R*,5*S* e a CD iônica observou-se também a inclusão dos diferentes enantiômeros da lactona de whisky na CD iônica e interações não covalentes polares entre quatro átomos de oxigênio nomeadamente entre o átomo de oxigênio em C-2 da lactona de Whisky e o átomo de oxigênio em C-3 da ciclodextrina e o átomo de oxigênio O-1 da lactona de whisky e o átomo de oxigênio em C-4 da ciclodextrina (**Figura 2.5 e 2.6**).

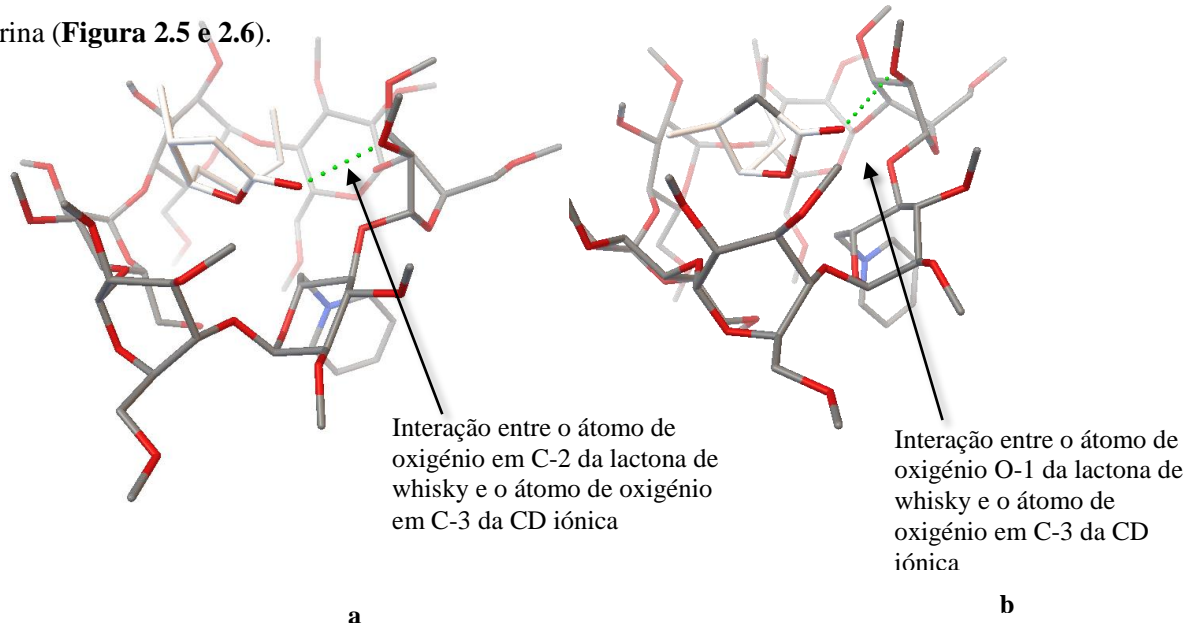


Figura 2.5. a-Complexo de energia mais baixa da CD iônica **1a** com a lactona de whisky 4*R*,5*R*(**6a**) e b-da CD iônica **1a** com a lactona de whisky 4*R*,5*S* (**6c**).

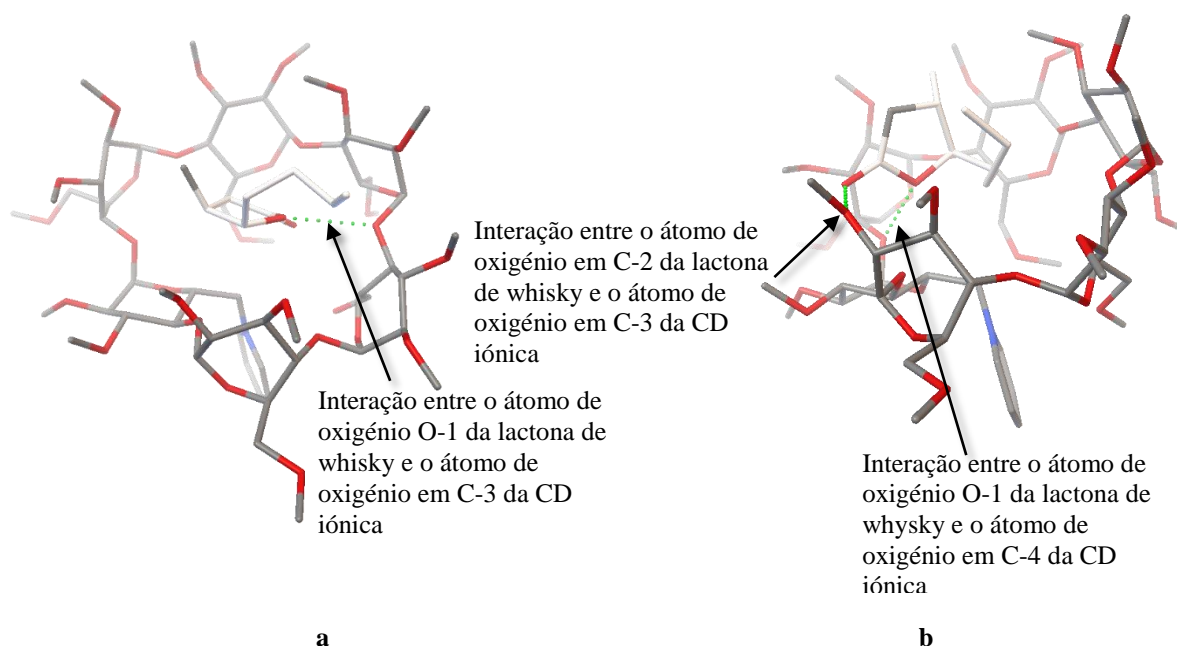


Figura 2.6. a-Complexo de energia mais baixa da CD iônica **1a** com a lactona de whisky *4S,5S*, (**6b**) e b-da CD iônica **1a** com a lactona de whisky *4S,5R*(**6d**).

A possível discriminação dos enantiômeros da lactona de whisky *4S,5S* e *4S,5R* para com a fase estacionária **1a** (Figura 1.15, página 25) é demonstrada através da comparação entre os complexos lactona de whisky *4S,5S* com a fase estacionária **1a** (Figura 2.6a) onde foram observadas duas interações entre os dois átomos de oxigênio da lactona de whisky e os átomos de oxigênio em C-4 e C-3) da CD iônica (Figura 2.6a) e a complexação da lactona de whisky *4S,5R* com a CD iônica onde apenas se observa interação do átomo de oxigênio O-1 da lactona de whisky com o átomo de oxigênio em C-4 da CD iônica (Figura 2.6b).

Apesar dos resultados computacionais obtidos para a previsão de ordem de eluição dos enantiômeros do epóxido de estireno e dos enantiômeros do éster mandélico estarem em concordância com os tempos de retenção obtidos experimentalmente não foi possível criar um modelo de previsão dada a ausência de correlação entre os resultados obtidos para as restantes moléculas testadas computacionalmente e os tempos de retenção obtidos em cromatografia gasosa, usando como fase estacionária o líquido iônico triflato de mono-6-deoxi-6-(piridínio) (Figura 1.5-1a, página 25).

2.2 Síntese de espaçadores

O problema de auto-inclusão de substituintes de ciclodextrinas mono-funcionalizadas, na sua cavidade tem sido descrito em inúmeros estudos, nomeadamente estudos dinâmicos de RMN^[67] de 6-tiofenil-6-deoxiciclodextrinas. Elena Bagryanskaya e colaboradores^[68] através de estudos de ¹H-RMN e de ressonância electrónica de spin (RES) realizados com a β -ciclodextrina permetilada 1-fenil-2-metilpropil-1,1-dimetil-2-nitróxido (TIPNO, Figura 2.7.a) observaram a existência de um estado de equilíbrio entre o complexo formado pelo encapsulamento do TIPNO na ciclodextrina permetilada

(auto-inclusão) e a forma sem inclusão do TIPNO (**Figura 2.7.b**), independentemente da concentração das moléculas competitivas.

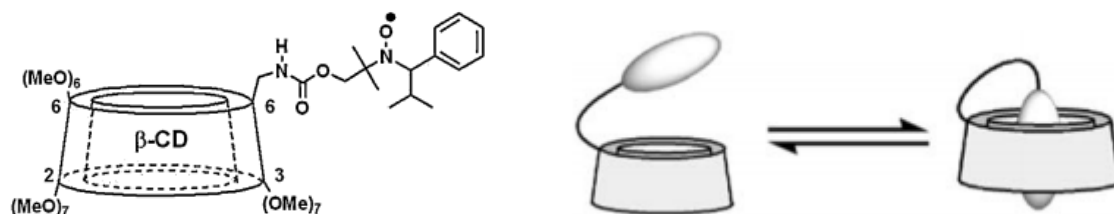


Figura 2.7. a- TIPNO, b- equilíbrio entre o complexo formado pela auto-inclusão do TIPNO na ciclodextrina e a forma sem inclusão^[68].

As ciclodextrinas são, como já referido, oligossacarídeos cíclicos constituídas por unidades de glucopirranose (quirais) cuja sua conformação macrocíclica, corresponde a uma estrutura cónica invertida (toroidal) onde os grupos hidroxilos secundários estão localizados na base superior e os primários na base inferior. São então constituídas por três grupos hidroxilos livres em cada molécula de glucose os quais permanecem livres após a formação das ligações glucosídicas α -(1-4) conferindo assim características nucleofílicas às ciclodextrinas devido à pré-disposição para formarem grupos alcóxidos. No exemplo da α -ciclodextrina temos 18 centros nucleófilos. Devido ao elevado número de centros reactivos, disponíveis na molécula de CD, pode ocorrer formação de misturas complexas de produtos. A selectividade e/ou o rendimento das reacções de derivatização das moléculas de CD são assim condicionadas por factores estatísticos, devido ao elevado número de centros reactivos, e também através de factores estereoquímicos devido à estrutura toroidal do cone da CD. A **Figura 2.8** trata-se da representação esquemática usada para representar as diferentes ciclodextrinas nas estratégias sintéticas adoptadas.

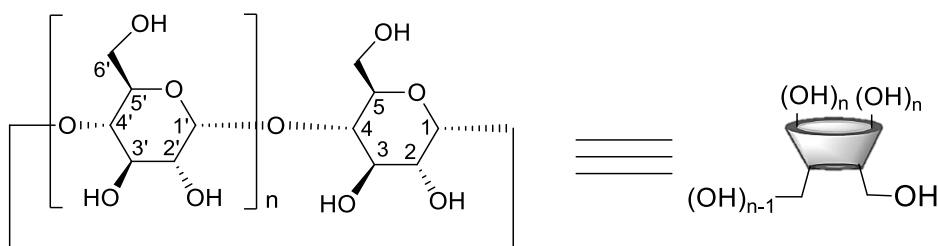


Figura 2.8. Representação esquemática das CDs.

A possibilidade de bloqueio da cavidade da ciclodextrina quer pelo anião quer pela zona de deficiência electrónica numa unidade de glucopirranose no átomo de carbono C-6 da ciclodextrina poderá influenciar a dificuldade de discriminação enantiomérica obtida em fases estacionárias compostas por ciclodextrinas iónicas. Como conseguinte, o trabalho realizado teve como principal objectivo a síntese de um conjunto de “spacers” ou espaçadores de modo a serem inseridos no átomo de oxigénio na posição C-6 de uma das unidades de glucopirranose da ciclodextrina de modo a garantir o afastamento quer da

zona de electrodefini ncia desta quer do an o da cavidade da ciclodextrina e de modo a manter o selector quiral longe da superfície de suporte (**Figura 2.9**).

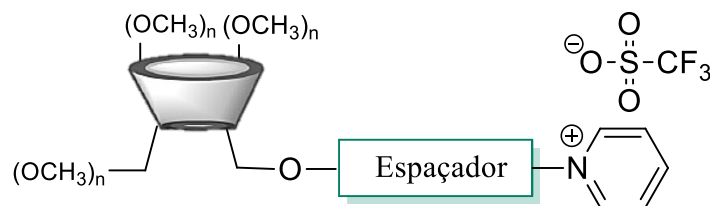


Figura 2.9. Sal de ciclodextrina com o espaçador.

Os grupos hidroxilos secundários das unidades de glucopiranosose apresentam reactividade diferente dos grupos hidroxilos primários (grupos C(6)-OH) pelo que a estratégia s ntetica a ser seguida inicia-se por uma transforma o regioselectiva^[57,58], das α e β ciclodextrinas nativas, recorrendo a dois grupos protectores o *terc*-butildimetilsililo e o grupo volumoso *terc*-butildifenilsililo levando   obten o dos derivados de ciclodextrinas permetiladas monossubstit idas na posi o C-6.

O principal requisito para a selec o dos compostos a actuarem como espaçadores foi a existência de dois grupos funcionais terminais em que um dos grupos fosse bom grupo de saída (pKa do ácido conjugado baixo) ao passo que o outro seria protegido, ou de modo a que um deles fosse facilmente convertidos a bons grupos de saída como   o caso dos dióis. A monoderiva o selectiva de dois grupos funcionais quimicamente equivalentes na mesma molécula   uma transforma o s ntetica complicada devido   pobre selectividade para o desejado produto monossubstit ido sendo obtido também o produto polissubstit ido^[69].

A estratégia adoptada para síntese dos espaçadores envolveu os seguintes passos: i) protec o de um dos grupos hidroxilo do espaçador e ii) conversão do álcool primário num bom grupo de saída (**Figura2.10**)

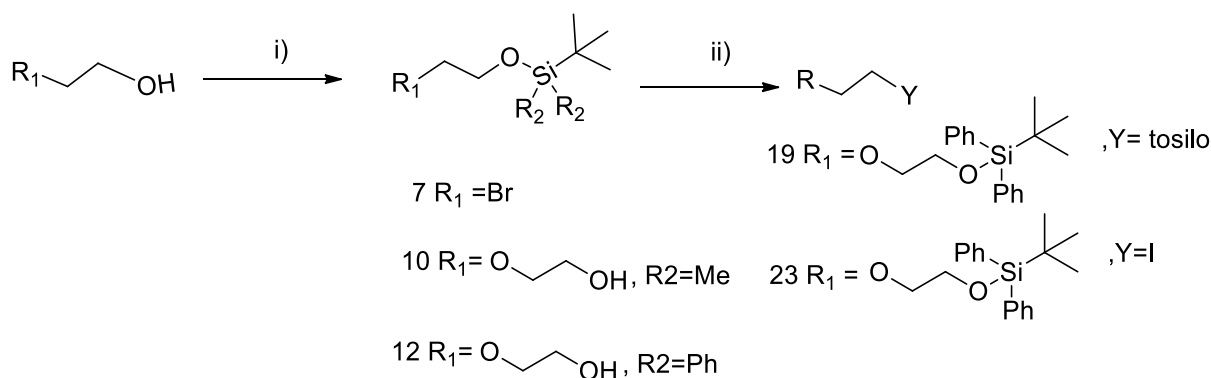


Figura 2.10. Estratégia s ntetica para a obten o dos espaçadores a adicionar no átomo de oxig nio em C-6 numa unidade de glucopiranosose da ciclodextrina.

2.2.1 Obtenção do 2-(bromoetoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano

Os éteres de silício são escolha frequente para a protecção de álcoois primários pois são introduzidos e removidos em condições relativamente suaves com recurso a bases fracas como é o caso da piridina e do imidazole. A escolha do cloreto de *tert*-butildimetilsililo em vez do cloreto de trimetilsililo deve-se ao facto do primeiro ser mais estável na presença de H₂O, sofrendo mais dificilmente hidrólise, do que o segundo devido ao impedimento estereoquímico formado pelo grupo *tert*-butilo. O imidazole não só se trata de uma base (pK_a= 7,1 para o ácido conjugado) como também actua como catalisador em reacções de hidrólise de ésteres^[70], acoplamento de péptidos^[71], iodação de álcoois^[72], sililações de álcoois primários^[73], entre outras.

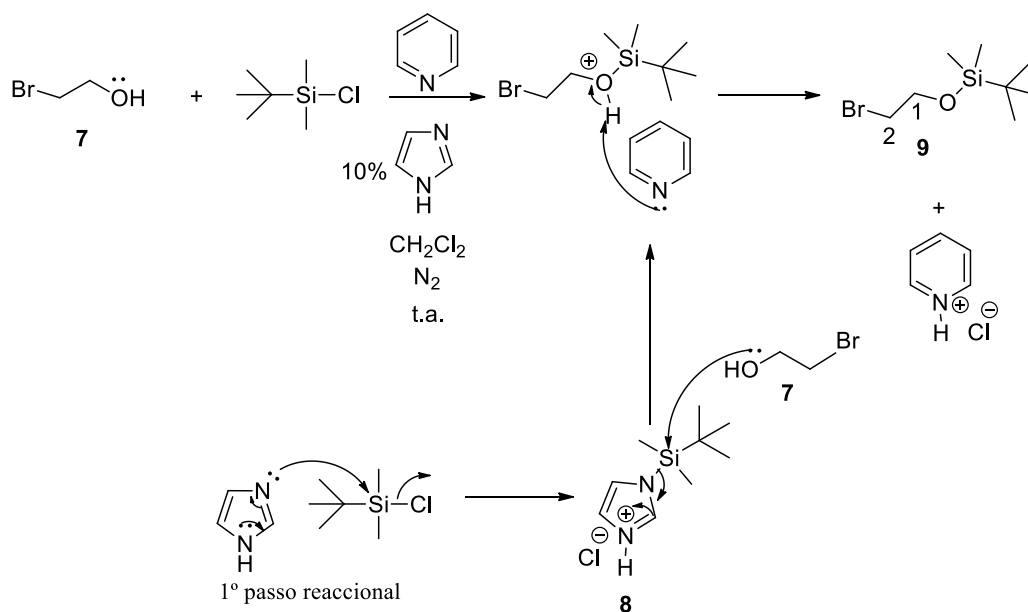


Figura 2.11. Mecanismo proposto para a formação de **9** a partir de **7**.

A protecção do bromoetanol **7** foi realizada com cloreto de (*tert*-butil)dimetilsilano (TBMSCl) e piridina na presença de imidazole(10%). O uso de imidazole é importante para que a reacção de protecção ocorra pois actuará como catalisador nucleofílico sendo o primeiro passo reaccional uma substituição S_N2 do Cl pelo imidazole levando à formação do intermediário reactivo **8** facilitando o ataque nucleofílico do álcool primário **7** ao silício levando à obtenção do éter de silício **9** com rendimento de 84,66% (**Figura 2.11**).

A caracterização do composto **9** foi realizada por análise de espectroscopia de IV onde se observam as bandas de deformação axial CH₃ a 2927 e 2884 cm⁻¹, CH₂ a 2861 cm⁻¹, a banda de deformação angular simétrica Si-CH₃ a 1469 e 1461 cm⁻¹, a banda de distensão CH₂-Br a 1255 cm⁻¹ e banda de deformação axial Si-O-C a 1123-1094 cm⁻¹, e por espectroscopia de ¹H-RMN onde se identifica o sinal dos protões H-2 a 3,89 ppm desdobrado em forma de tripleto com constante de acoplamento de 6,8 Hz, o sinal de H-1 a 3,39 ppm desdobrado em forma de tripleto com contante de

acoplamento de 6,4 Hz e os singletos do grupo *tert*-butilo e dos dois grupos metilos ligados ao silício a 0,90 e a 0,09 ppm respectivamente.

A partir do dietilenoglicol foram sintetizados espaçadores seguindo uma estratégia de síntese de i) protecção de um álcool primário e ii) conversão do grupo hidroxilo desprotegido, num bom grupo de saída através de reacções de a) sulfonação com anidrido triflico ou cloreto de tosilo, e b) iodação (**Figura 2.12**).

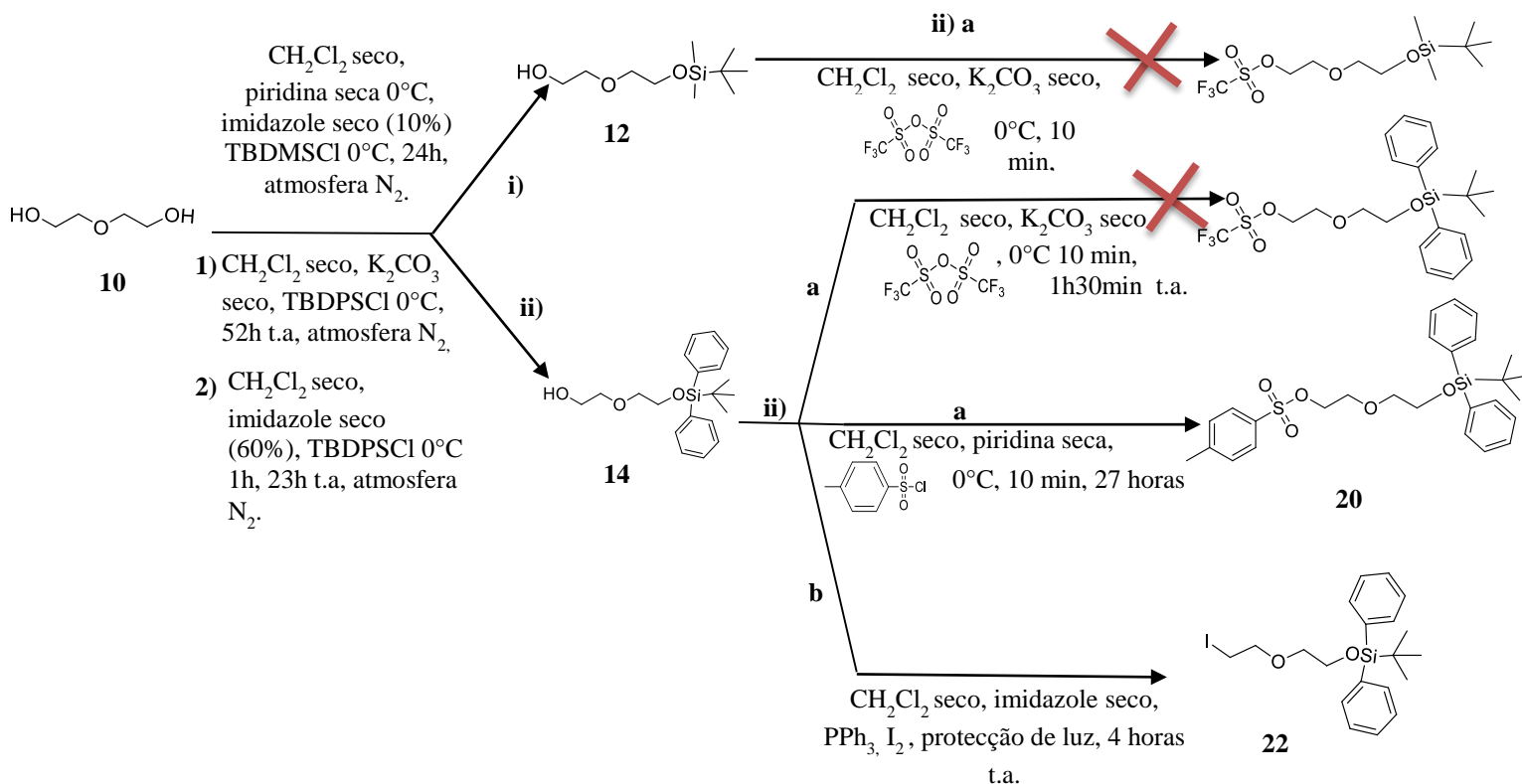


Figura 2.12. Plano sintético utilizado para a preparação de espaçadores derivados do dietilenoglicol.

2.2.2 Obtenção do 2-(2'((*tert*-butildimetilsililoxi)etoxi)etanol e do 2-(2'((*tert*-butildifenilsililoxi)etoxi)etanol

A protecção do dietilenoglicol (**10**) foi realizada com cloreto de *tert*-butildimetilsilil (TBDMSCl) nas mesmas condições reaccionais usadas na síntese do 2-(bromoetoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano com rendimento de apenas 20,9% e com cloreto de *tert*-butildifenilsilano (TBDPSCI) através de duas vias sintéticas: 1) recorrendo ao uso de K_2CO_3 como base e 2) recorrendo ao uso de imidazole como única base presente em solução. O primeiro passo reaccional dá-se através da formação do intermediário reactivo **8** e **11** e posterior obtenção dos álcoois monosililados **12** e **14** com rendimento de 20,9%, 28,4% e dos produtos secundários **13** e **15** (**Figura 2.13**).

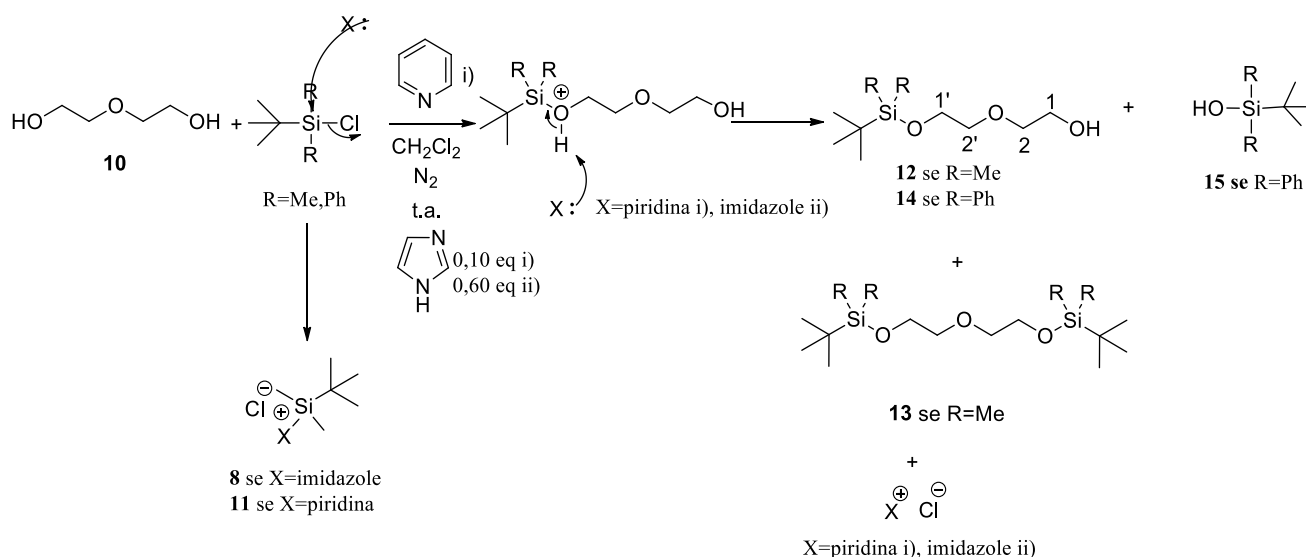


Figura 2.13. Mecanismos propostos para a síntese do 2-(2'((*tert*-butildimetilsililoxi)etoxi)etanol (**12**) e do 2'((*tert*-butildifenilsililoxi)etoxi)etanol (**14**).

Através do espectro de ^1H -RMN de **12** é possível identificar o composto nomeadamente através dos sinais dos prótons metilénicos H-1', a campo baixo, a 3,78 ppm desdobrado como tripleto com constante de acoplamento de 4,0Hz. Estes encontram-se a campo baixo pois encontram-se desblindados pelo oxigénio (mais electronegativo do que o carbono) e pelos anéis aromáticos do grupo -OTBDMS. De seguida encontram-se os prótons metilénicos H-1 como tripleto a 3,73 ppm com constante de acoplamento de 4,0Hz, os prótons metilénicos H-2' e H-2 como tripletos a 3,63 e 3,60 ppm com constantes de acoplamento de 4,0Hz respectivamente e dois singletos a campo baixo, 0,92 e a 0,09 ppm do grupo *tert*-butilo e dos dois grupos metilo ligados ao átomo de silício. O silício é menos electronegativo do que o carbono razão pela qual aumenta a densidade electrónica no carbono blindando assim os hidrogénios dos grupos metilos e do grupo *tert*-butilo aparecendo os sinais dos respectivos hidrogénios no espectro de ^1H -RMN a campo alto. No espectro de IV de **12** é possível observar a banda referente à distensão OH a 3428 cm^{-1} comprovando a presença do álcool e a banda de deformação axial CH_2 a 2858 cm^{-1} . A presença do grupo protector TBDMS- é comprovada pelas bandas de deformação axial CH_3 a 2930 cm^{-1} , pela banda de deformação angular simétrica $\text{Si}-\text{CH}_3$ a 1472 e 1464 cm^{-1} e pelas bandas de deformação axial $\text{Si}-\text{O}-\text{C}$ a 1138 - 1065 cm^{-1} . A estrutura de **13** é confirmada pelo seu espectro de ^1H -RMN com a existência de apenas dois tripletos a 3,84 e 3,64 ppm com constantes de acoplamento de 5,6 Hz correspondendo aos sinais dos prótons H-1 e H-2 respectivamente comprovando assim a existência de simetria na molécula bem como através do espectro de IV com a ausência da banda de distensão OH.

No espectro de ^1H -RMN de **14** é possível identificar a estrutura do composto através dos sinais dos prótons do anel aromático na posição *orto* a 7,69 ppm desdobrado como dubleto com constante de acoplamento de 6,8Hz, posição *para* e *meta* a 7,40 ppm desdobrado como dois trilpletos com constantes de acoplamento de 7,2Hz e 6,8Hz respectivamente, dos sinais dos metilenos H-1',2',1,2 e do sinal

singleto dos prótons do *terc*-butilo que se encontra a campo mais baixo (1,09 ppm) em relação aos sinais dos prótons do *terc*-butilo de **12** e **13** pois sofrem, embora muito fracamente, o factor de desblindagem pela existência dos grupos fenilos ligados ao silício. No espectro de IV de **14** encontra-se a banda referente à distensão OH a 3436 cm⁻¹. A presença do grupo protector -OTBDPS é comprovada pelas bandas das ligações C-H's dos átomos de carbono saturados a 3072 ,3050 e 1739cm⁻¹, de deformação axial CH a 2953 cm⁻¹, CH₃ a 2930 e 2897 cm⁻¹, pela banda de deformação angular simétrica Si-CH₃ a 1461cm⁻¹, pelas bandas características do anel aromático 3071, 3050 pelas bandas harmónicas a 1963, 1893 e 1828 cm⁻¹. As bandas de deformação axial Si-O-C encontram-se a 1138-1065 cm⁻¹.

A formação do composto **15** é confirmada através ausência dos sinais dos prótons dos grupos metilenos H-1',2',1,2, no espectro de ¹H-RMN do composto e no respectivo espectro de IV através da banda OH a 3436 cm⁻¹e da ausência das bandas do sistema C-O-C e Si-O-C como se observa nas Tabelas 2.2 e 2.3.

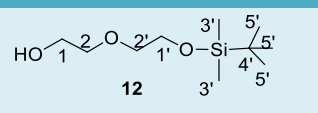
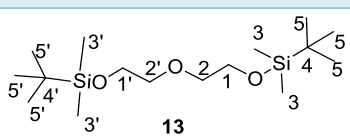
Composto	H-1	H-2	H-1'	H-2'	H-3'	H-5'
 12	3,73 (t, J=4Hz)	3,60 (t, J=4Hz)	3,78 (t, J=4Hz)	3,63 (t, J=4Hz)	0,091 (s)	0,92 (s)
 13	3,84 (t, J=5,6Hz)	3,64 (t, J=5,6Hz)	3,84 (t,J=5,6Hz)	3,64 (t, J=5,6Hz)	0,15 (s)	0,98 (s)

Tabela 2.2. Tabela com sinais e contantes de acoplamento de cada átomo de hidrogénio nas moléculas **12** e **13**.

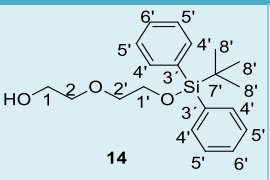
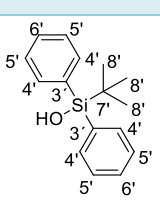
Composto	H-1	H-2	H-1'	H-2'	H-4'	H-5'	H-6'	H-8'
 14	3,70 (t) J=4,0Hz	3,62 (t) J=6,0Hz	3,81 (t) J=4,8Hz	3,62 (t) J=4,8Hz	7,69 (d) J=6,8Hz	7,40 (t) J=6,8Hz	7,40 (t) J=7,2Hz	1,06 (s)
 15	-	-	-	-	7,71 (d) J=8Hz	7,39 (t) J=8Hz	7,39 (t) J=8Hz	1,06 (s)

Tabela 2.3. Tabela com sinais e contantes de acoplamento de de cada átomo de hidrogénio nas moléculas **14** e **15**.

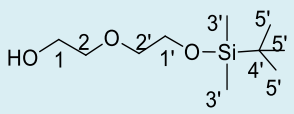
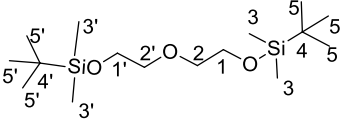
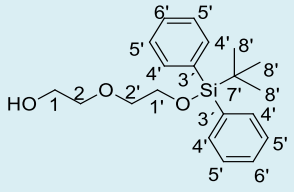
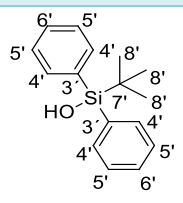
Composto	-OH	CH ₃	CH ₂	Anel aromático	C-O-C	Si-C	Si-O-C
 <p>12</p>	3428	2930 (v _s), 2890 (v _{as})	2951 (v _{as}), 2858 (v _s)	-	837 (v _s)	1463	1106
 <p>13</p>	-	2929 (v _s), 2890 (v _{as})	2950 (v _{as}), 2856 (v _s)	-	835 (v _s)	1463	1105
 <p>14</p>	3436	2930 (v _s), 2897 (v _{as})	2953 (v _{as}), 2858 (v _s)	3072 e 3050, 1963, 1894, 1828 (harmónicas) 1739 (C=C),	1065 (v _s), 823 (v _{as})	1462	1113
 <p>15</p>	3429	2931 (v _s), 2891 (v _{as})	2959 (v _{as}), 2931 (v _s)	3072 e 3050, 1959, 1888, 1822(harmónicas) 3072 e 3050, 1714 (C=C),	823 (v _{as})	1472	-

Tabela 2.4. Tabela com bandas seleccionadas de cada espectro de IV dos espaçadores sintetizados derivados do dietilenoglicol.

2.2.3 Sulfonação dos espaçadores

A estratégia para tornar um grupo hidroxilo num bom grupo de saída é a sua conversão numa base fraca (ácido conjugado do grupo de saída forte). Para tal testámos os reagentes sulfonados, anidrido triflico (pKa do ácido conjugado=-14) e cloreto de tosilo (pKa do ácido conjugado=-6) (**Tabela 2.5**) com os álcoois primários monoprotetizados sintetizados **12** e **14** e com um álcool primário comercial o (*terc*-butildimetilsililoxi)oxi)butanol.

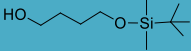
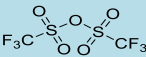
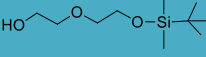
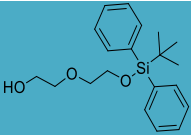
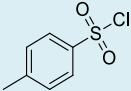
Espaçadores	Quantidade mg; mmoles	Reagente	Quantidade mg; mmoles	CH ₂ Cl ₂ Volume (mL)	Base mL ou mg* ; mmoles	Tempo de reação	Produto pretendido
 16	100; 0,49		0,1; 0,594	5,0	Piridina, 0,4; 4,97	24h	Não obtido
 12	419,2; 1,90		0,64; 3,80	3,5	K ₂ CO ₃ 419; 3,03	48h	Não obtido
 14	74,00; 0,839		0,1; 0,594	1	K ₂ CO ₃ 419*; 3,03	1h 30min	Não obtido
14	105; 0,305		60; 0,314	5,0	Piridina 0,25; 0,210	27h	Obtido (η =79,21%)

Tabela 2.5. Condições experimentais de sulfonação aplicadas aos diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas sob atmosfera de N₂.

Apenas foi obtido o produto da reacção de sulfonação de **14** com cloreto de tosilo (pKa do ácido conjugado = -6). Segundo S.L. Taylor e J.C. Martin^[74] na presença de piridina e de diclorometano o primeiro passo reaccional da tosilação de um álcool primário trata-se da formação da espécie extremamente reactiva **17**. Tal como o imidazole anteriormente descrito, a piridina funciona como catalisador atacando nucleofílicamente o cloreto de tosilo favorecendo o ataque nucleofílico do átomo de oxigénio do álcool primário ao átomo de enxofre que se encontra electrodeficiente levando à obtenção do composto **18** com um rendimento elevado de 79,21% (**Figura 2.14**. Conversão do álcool primário **14** num bom grupo de saída através de uma reacção de tosilação^[74]).

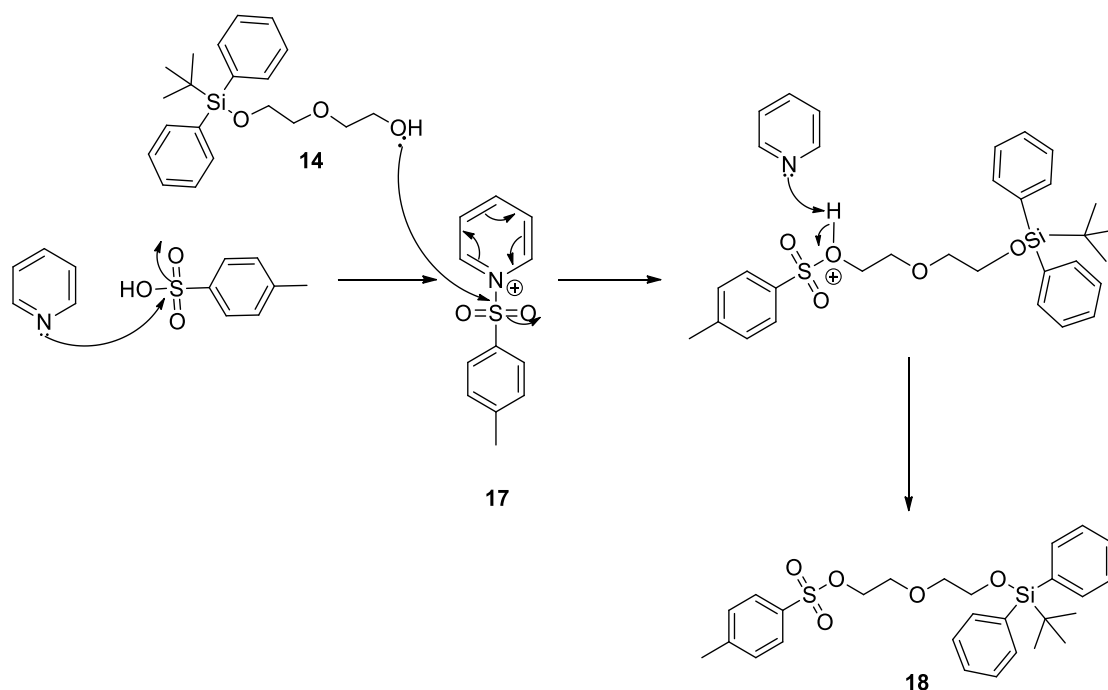


Figura 2.14. Conversão do álcool primário **14** num bom grupo de saída através de uma reacção de tosilção^[74].

No espectro de ^1H -RMN observa-se a presença do grupo tosilo no composto através do duplete a 7,78 ppm com constante de acoplamento de 4Hz dos prótons que se encontram na posição *orto* do anel aromático, do duplete a 7,28 ppm com constante de acoplamento de 12 Hz dos prótons na posição *meta* bem como através do singlete a 2,40 ppm dos prótons do grupo metilo do tosilo (**Tabela 2.6**). No espectro de IV é possível identificar as bandas características do grupo tosilo nomeadamente da deformação axial assimétrica e simétrica S(=O)_2 a 1360 e a 1177cm^{-1} e da deformação axial do sistema (S-O-C) de $1020\text{-}776\text{ cm}^{-1}$.

Composto	H-1	H-1'	H-2	H-2'	H-4'	H-5'	H-6'	H-8'	H-4	H-5	H-7	H-8'
 14	3,62 (t) 4,8Hz	3,81 (t) 4,8Hz	3,62 (t) 6,0Hz	3,70 (t) 4,0Hz	7,40 (t) 6,8Hz	7,40 (dt) 7,2Hz	7,40 (dt) 7,2Hz	3,81 (t) 4,8Hz	-	-	-	1,06 (s)
 18	4,13 (t) 4,8Hz	3,73 (t) 4,8Hz	3,51 (t) 5,2Hz	3,67 (t) 4,8Hz	7,66 (d) 4,0Hz	7,38 (dt) 7,2Hz	7,38 (dt) 7,2Hz	1,03 (s)	7,78 (d) 8Hz	7,28 (d) 8Hz	2,40 (s)	1,03 (s)

Tabela 2.6. Desvios químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento dos prótons dos compostos **14** e **18**.

2.2.4 Obtenção do espaçador *terc*-butil(2-(2-iodoetoxi)etoxi)difenilsilano

Através de uma reacção de *Michaelis Arbusov* foi sintetizado um novo composto com um bom grupo de saída a partir do álcool primário **14**. A estratégia sintética foi baseada na utilizada por Zoran Dinev e colaboradores ^[75] na iodação de álcoois primários de derivados da galactose, no entanto, em vez da utilização de tolueno como solvente optámos pelo uso do diclorometano seco como solvente tendo sido a reacção realizada à temperatura ambiente com duração de 4 horas e com um rendimento superior obtido, 83,04%, face aos 35% obtidos pelos autores referidos.

É do conhecimento científico que os fenil-halogenofosforanos em solução podem existir como mistura de equilíbrio entre o fosforano e o sal de fosfónio. Tal foi comprovado através de um estudo de ¹⁵P-RMN levado a cabo por Per J. Garegg e colaboradores ^[76] no qual sugeriram a existência de uma mistura de equilíbrio entre o iodeto iodotrifenílfosfónio **19a** e o di-iodotrifenílfosforano **19b**. A reacção de iodação ocorre então via activação da trifenílfosfina. Na presença de imidazol forma-se o complexo iodeto trifenílfosfina-imidazol que em equilíbrio forma a espécie reactiva **20** favorecendo o ataque nucleofílico do oxigénio do álcool no átomo de fósforo para dar origem ao intermediário oxifosfónio **21** promovendo a reacção de substituição S_N2 com o ataque nucleofílico do iodeto ao átomo de carbono C-1 com consequente libertação de óxido de trifenílfosfina e formação de **22** (**Figura 2.15**).

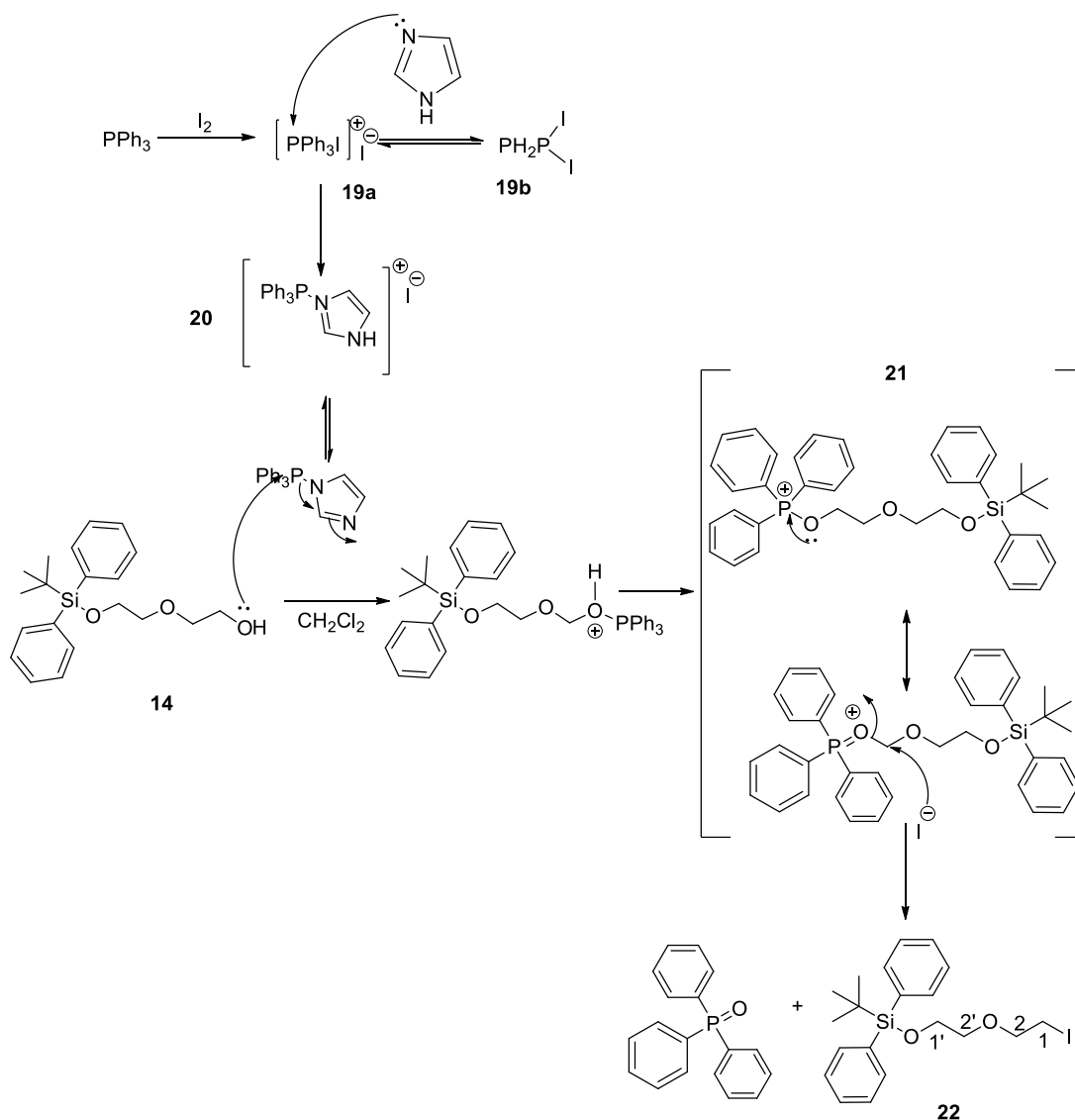


Figura 2.15. Mecanismo de formação do composto *tert*-butil(2-(2-iodoetoxi)etoxi)difenilsilano^[76].

A identificação do composto é apenas observada através do desvio químico do tripleto com constante de acoplamento de 8Hz dos prótons metilénicos H-1 adjacentes ao iodo a 3,21 ppm encontrando-se como expectável a campo mais alto do que os prótons metilénicos H-1 de **14** dada a maior electronegatividade do átomo de oxigénio face ao átomo de Iodo.

Uma vez criados os espaçadores foram realizados ensaios com álcool benzílico para testar a eficácia na introdução dos espaçadores no átomo de oxigénio de uma unidade de glucopiranosose em C-6 das α e β ciclodextrinas permetiladas.

2.2.5 Testes de reactividade dos espaçadores com álcoois primários e secundários

Após a síntese dos espaçadores foram realizados testes de reactividade com dois álcoois primários, o álcool benzílico e o 1-pentanol, e um álcool secundário, o mentol.

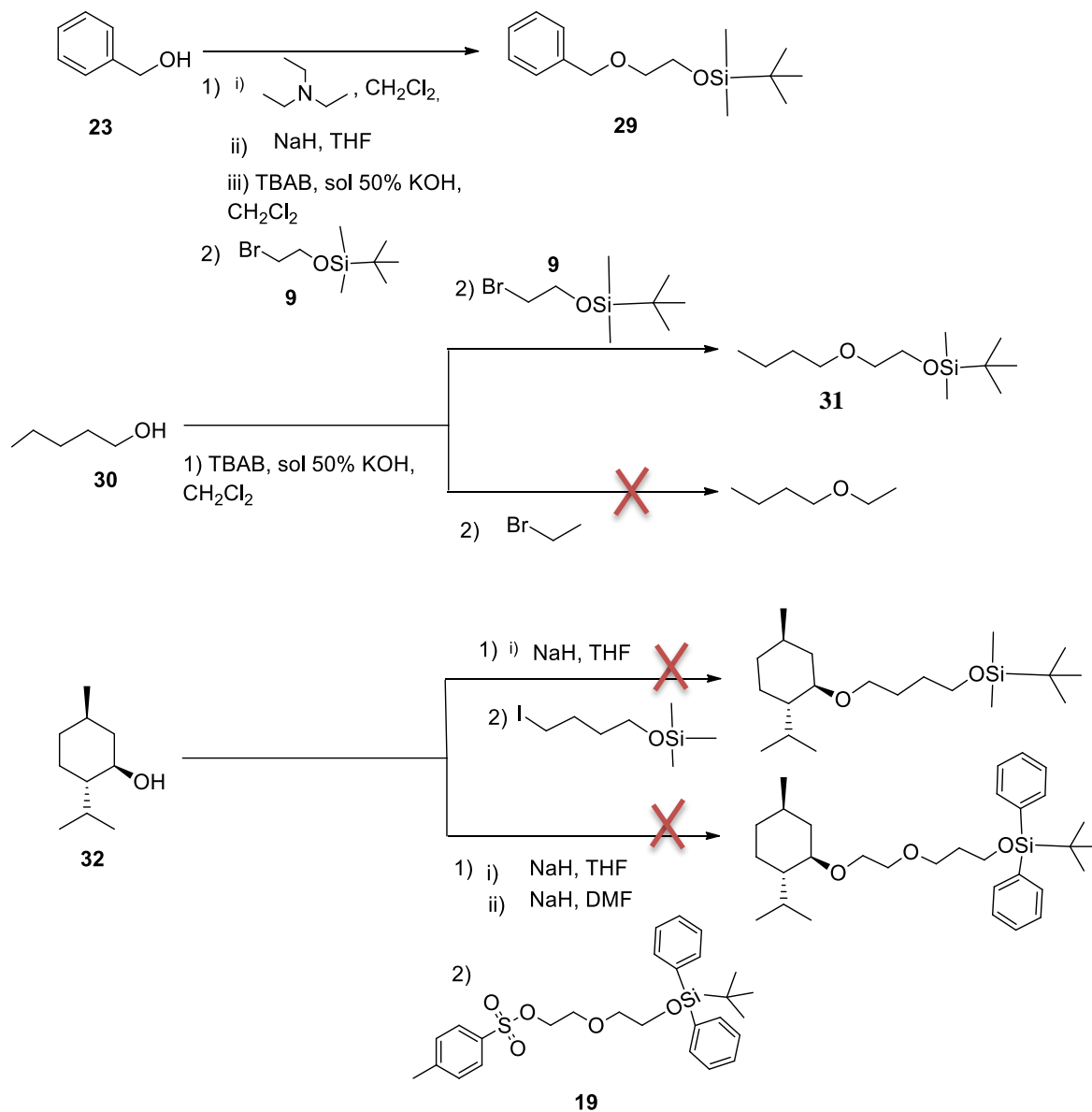


Figura 2.16. Estratégia sintética dos testes de reactividade realizados com os espaçadores 9 e 19 com os álcoois primários 23, 30 e o álcool secundário 32.

2.2.5.1 Obtenção do (2-(benziloxi)etoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano

Para obtenção do composto (2-(benziloxi)etoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano foram testadas três reacções S_N2 através do uso de trietilamina (i), através do uso de NaH como base (ii) e através de catálise por transferência de fase recorrendo ao brometo tetra-*n*-butilamónio (TBAB) como catalisador de transferência de fase (iii). Na **Tabela 2.7** encontram-se apresentadas as condições experimentais aplicadas ao álcool benzílico e o espaçador 2-(bromoetoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (**9**).

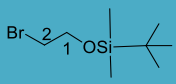
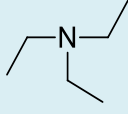
Reacção	Quantidade álcool (23) mg; mmoles	Espaçador		Solvente (mL)	Base mg; mmoles	Tempo de reacção
			9 mg; mmoles			
i)	90,5; 0,837		200; 0,836	CH ₂ Cl ₂ (3)	 84,60; 0,835	1 dia à temperatura ambiente. Posterior adição de KI (27,8mg, 0,167 mmoles) seguido de refluxo durante 4 dias
ii)	90,04; 0,837		200; 0,836	THF (2,5)	NaH 60; 2,5	11 dias e 18 horas à temperatura ambiente
iii)	90,4; 0,838		200,2; 0,837	CH ₂ Cl ₂ (3,5)	TBAB 0,115	9 dias à temperatura ambiente
					solução aquosa 50% KOH 1 mL	

Tabela 2.7. Condições experimentais aplicadas ao álcool benzílico e respectivo espaçador. Todas as reacções foram realizadas a atmosfera de N₂.

As metodologias sintéticas utilizadas demonstraram não ser as mais adequadas na adição do álcool benzílico ao espaçador **9**. Na reacção i) não se observou qualquer progressão por cromatografia em camada fina (c.c.f.). Já na reacção ii), por c.c.f, observou-se, para além das manchas dos materiais de partida, a formação de uma mancha com o factor de retenção de 0,6 o mesmo obtido para o benzaldeído. Apesar da mistura reaccional permanecer sobre atmosfera azoto e apesar do THF ter sido seco com fio de sódio, devido à sensibilidade da reacção e devido ao facto do THF dissolver o oxigénio molecular facilmente, poderá ter ocorrido auto-oxidação do álcool benzílico^[77]. Nesta hipótese o ião

alcóxi é oxidado pelo oxigénio no seu estado tripleto via mecanismo radicalar (**24** e **25**) levando à formação do aldeído **26** e peróxido de sódio como é demonstrado no mecanismo proposto na **Figura 2.17**.

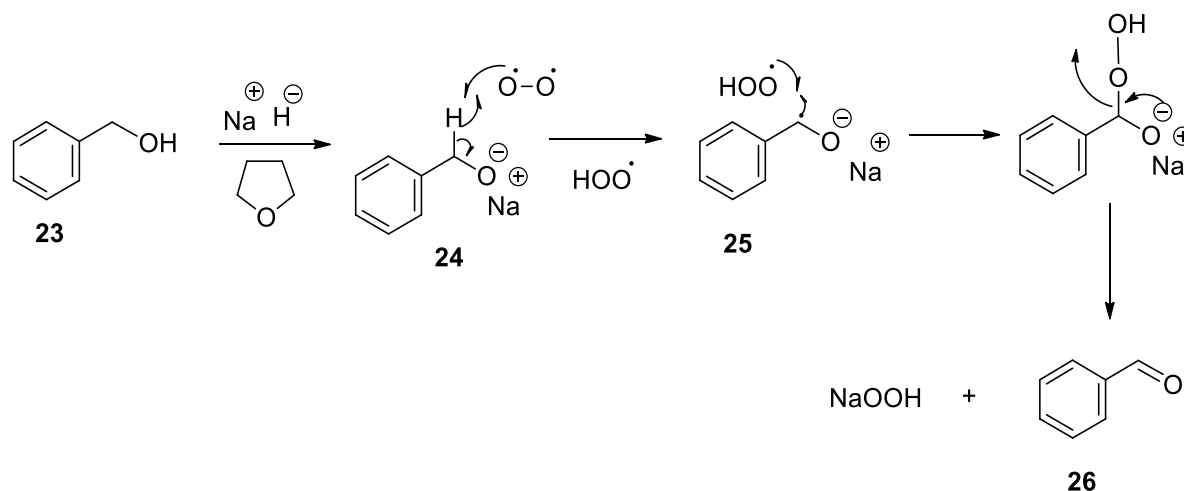


Figura 2.17.Esquema proposto para a formação do benzaldeído na reacção ii por processo de auto-oxidação^[77].

Das três reacções testadas apenas a catálise por transferência de fase (iii) apresentou formação do composto esperado ((2-(benziloxi)etoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano), embora em quantidades muito reduzidas. A catálise por transferência de fase consiste como o próprio nome indica na catálise da reacção promovida por um catalisador de transferência de fase com afinidade para ambas as fases. Neste caso o catalisador utilizado foi o brometo tetra-*n*-butilamónio. Na fase aquosa ocorre desprotonação do álcool benzílico pela base forte KOH formando o alcóxido **27**. O catalisador de transferência de fase que se encontra na interfase complexa com o alcóxido (**28**) facilitando o seu transporte para a fase orgânica e promovendo assim a reacção $\text{S}_{\text{N}}2$ do alcóxido benzílico no carbono C-2 de **9** levando à formação de **29**. O catalisador é regenerado e transferido novamente para a interfase. Na **Figura 2.18** é proposto o mecanismo de catálise por transferência de fase da reacção iii).

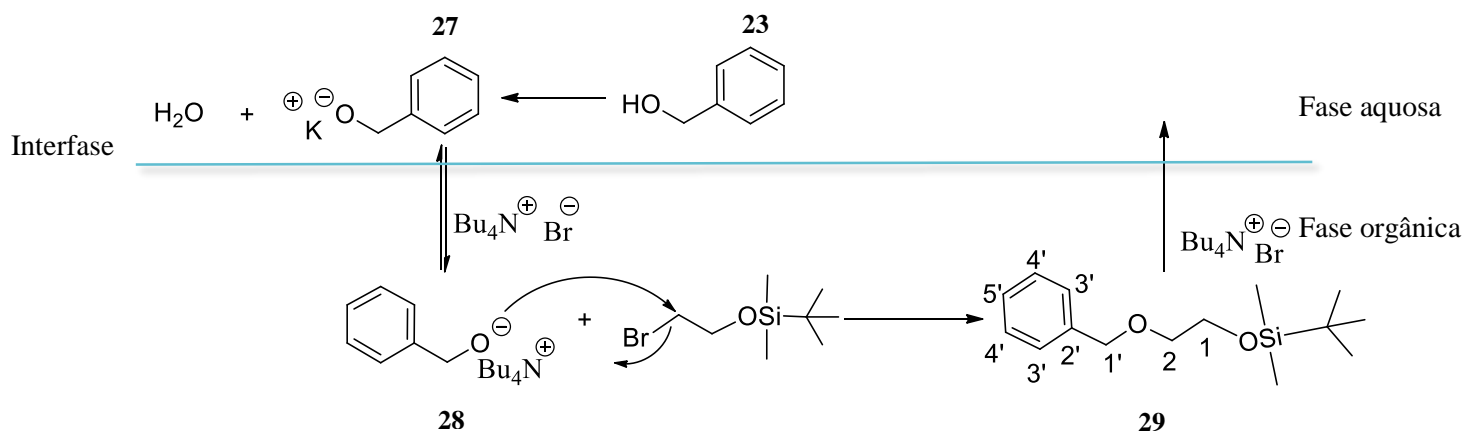


Figura 2.18. Mecanismo proposto para a obtenção de **29** a partir de **23** e **9** a partir de uma reacção de catálise por transferência de fase^[84].

A caracterização do composto **29** foi realizada por ¹H-RMN através dos sinais apresentados a 7,41 ppm dos prótons aromáticos, do sinal 4,72 ppm referente aos prótons metilénicos em C-1' apresentado como singuleto, dos sinais a 3,95 e 3,45 com constantes de acoplamento de 6,4 Hz, dos prótons em C-1 e C-2, respectivamente, desdobrados em forma de tripletos e dos sinais em forma de singuleto a 0,98 ppm do *tert*-butilo e 0,15 ppm dos dois grupos metilo ligados ao silício representados.

2.2.5.2 Obtenção do 1-etoxipentano

De modo a testar a eficiência da adição do (2-bromoetoxi)(*tert*-butildimetil)silano a um átomo de oxigénio de um álcool primário, foram testadas duas reacções de catálise por transferência de fase com o pentanol, nas mesmas condições reaccionais usando como espaçadores o composto monossilado (**9**) e o composto bromo-etano .

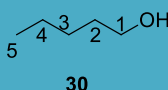

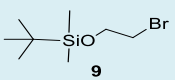
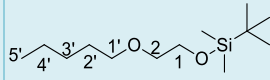
Quantidade álcool mg, mmoles  30	Espaçador	Quantidade espaçador Mg; mmoles	Solvente CH ₂ Cl ₂ (mL)	Base mg; mmoles	Tempo de reacção	Produto obtido
74,10, 0,840	 30	90,20; 0,828	3,5	TBAB 67; 0,207	5 dias à temperatura ambiente e sobre atmosfera de azoto	Não ocorreu reacção
				solução aquosa 50%KOH 1mL		
74,00, 0,839	 9	200,83 0,840	3,5	TBAB 67; 0,207	5 dias à temperatura ambiente e sobre atmosfera de azoto	 31
				solução aquosa 50%KOH 1 mL		

Tabela 2.8. Condições experimentais aplicadas ao pentanol e diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas a atmosfera de N₂.

Somente o composto **31** foi obtido.

Por último testámos a inserção de dois espaçadores num álcool secundário o (1*R*,2*S*,5*R*)-2-isopropil-5-metilciclohexanol (**32**) (Tabela 2.8).

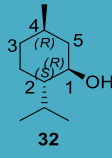
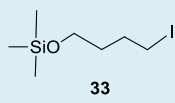
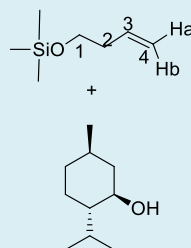
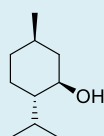
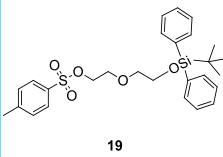
Quantidade  32 mg mmoles	Espaçador	Quantidade espaçador mL; mmoles	Solvente (THF) mL	Base quantidade mg mmoles	Tempo de reacção	Produto (s) obtidos
500, 0,840	 33	0,81; 3,313	2	NaH 154 6,42	5 dias à temperatura ambiente e sobre atmosfera de azoto	 34 +  32
18, 0,17	 19	56 0,123		NaH 5,4 0,015	5 dias à temperatura ambiente e sobre atmosfera de azoto, 2 dias a refluxo	Não ocorreu reacção

Tabela 2.9. Condições experimentais aplicadas ao mentol (**32**) e diferentes espaçadores. Todas as reacções foram realizadas sob atmosfera de N₂.

No espectro de ¹H-RMN de **34** foram identificados os sinais dos protões alílicos H-3 a 5,91 ppm, o sinal em forma de ddd dos protões H-4 com constantes J_{cis}=10Hz, J_{trans}= 18Hz e J_{ab}= 1,2Hz. Foi também identificado o tripleto a 3,75 ppm e o sinal quarteto a 2,37 ppm do H-1 e H-3 respectivamente.

2.2.6 Obtenção dos líquidos iónicos triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridin-1-ilo)pentakis(2', 3', 6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose

Após os testes realizados, os espaçadores foram testados nas ciclodextrinas (CDs) permetiladas α e β. A estratégia adoptada para a síntese dos líquidos iónicos envolveu os seguintes passos: i) protecção regioselectiva do grupo hidroxilo primário de uma unidade de glucopirranose da ciclodextrina e metilação dos grupos hidroxilos das restantes unidades de glucopirranose, ii) desprotecção, iii a) formação do líquido iónico, iii b) adição do espaçador à ciclodextrina, iv) desprotecção do grupo hidroxilo do espaçador, v) formação do líquido iónico (Figura 2.19).

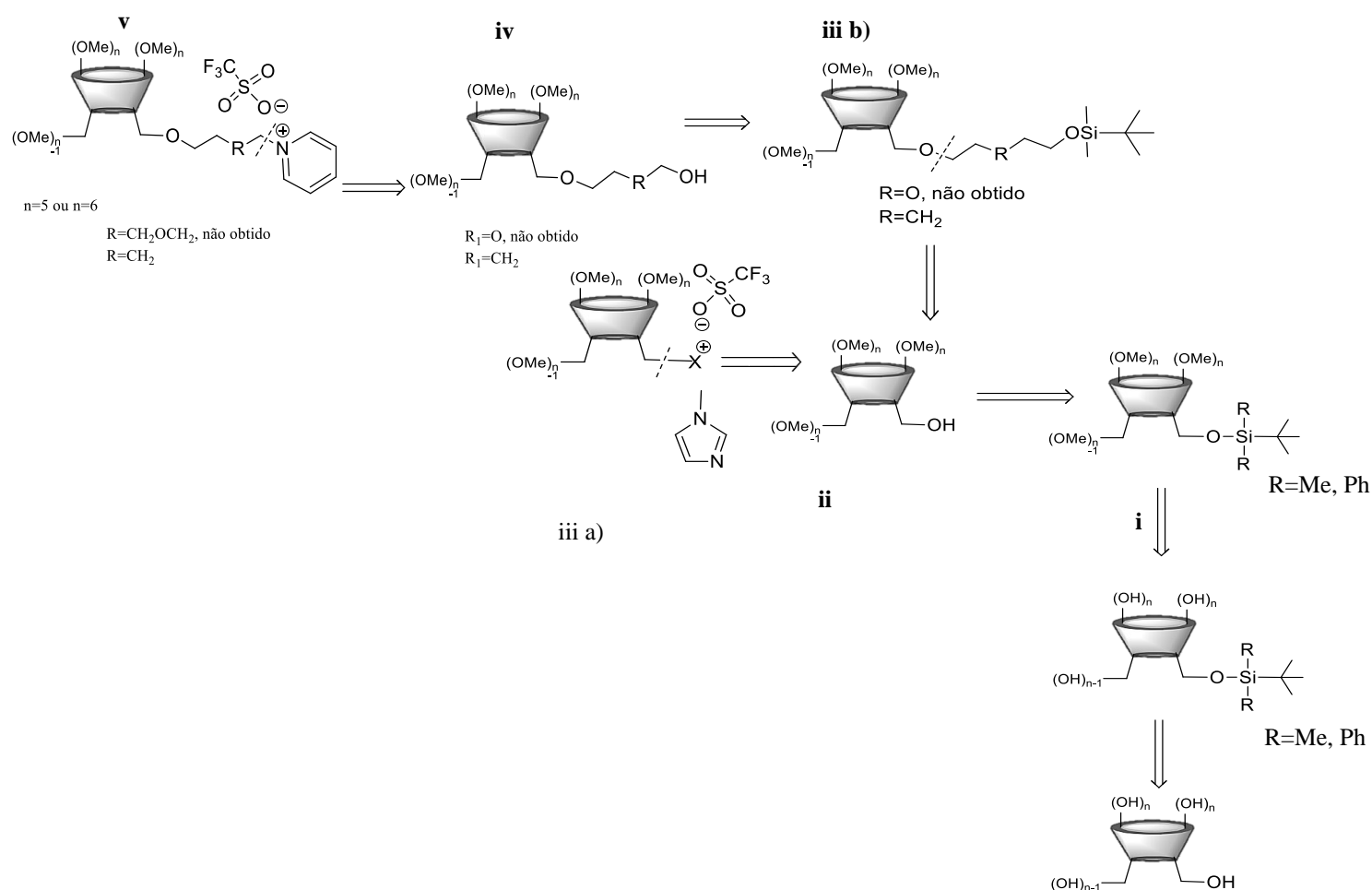


Figura 2.19. Análise retrosintética dos líquido iónicos sintetizados a partir das ciclodextrinas α e β .

Lupescu e colaboradores^[59] sintetizaram ciclodextrinas permetiladas com protecção regioselectiva do grupo hidroxilo no átomo de carbono em C-6 de uma única unidade de glucopiranosose, metilação dos restantes grupos hidroxilos da β -ciclodextrina seguida de uma reacção de desprotecção num só passo reaccional. Devido aos produtos secundários polissililados obtidos durante a reacção de sililação e metilação, decidimos realizar primeiro a reacção de protecção, separar por cromatografia em coluna a ciclodextrina monossililada da ciclodextrina polissililada e da ciclodextrina permetilada e só posteriormente realizar a reacção de desprotecção da ciclodextrina monossililada.

2.2.6.1 Obtenção do composto (2,3-di-*O*-metil-6-*o*-*terc* butildifenilsilil)pentakis/hexakis(2,3,6-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose/heptaose e do composto 2,3-di-*O*-metil-6-*O*-*terc*-butildimetilsilil)pentakis/hexakis(2,3,6-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose/heptaose

A reacção de protecção do álcool primário em C-6 da α e β -CD foi realizada com TBDPS-Cl ou TBDMS-Cl em N,N-dimetilformamida na presença de imidazole actuando este último como catalisador. O primeiro passo reacctional trata-se do ataque nucleofílico do imidazole ao átomo de silício do grupo protector levando à formação da espécie reactiva (**8a** ou **8b**) e favorecendo o ataque nucleofílico do átomo de oxigénio em C-6 ao grupo protector –TBDMS ou –TBDPS levando à formação dos compostos monoprotegidos **41-44**. (Figura 2.20)

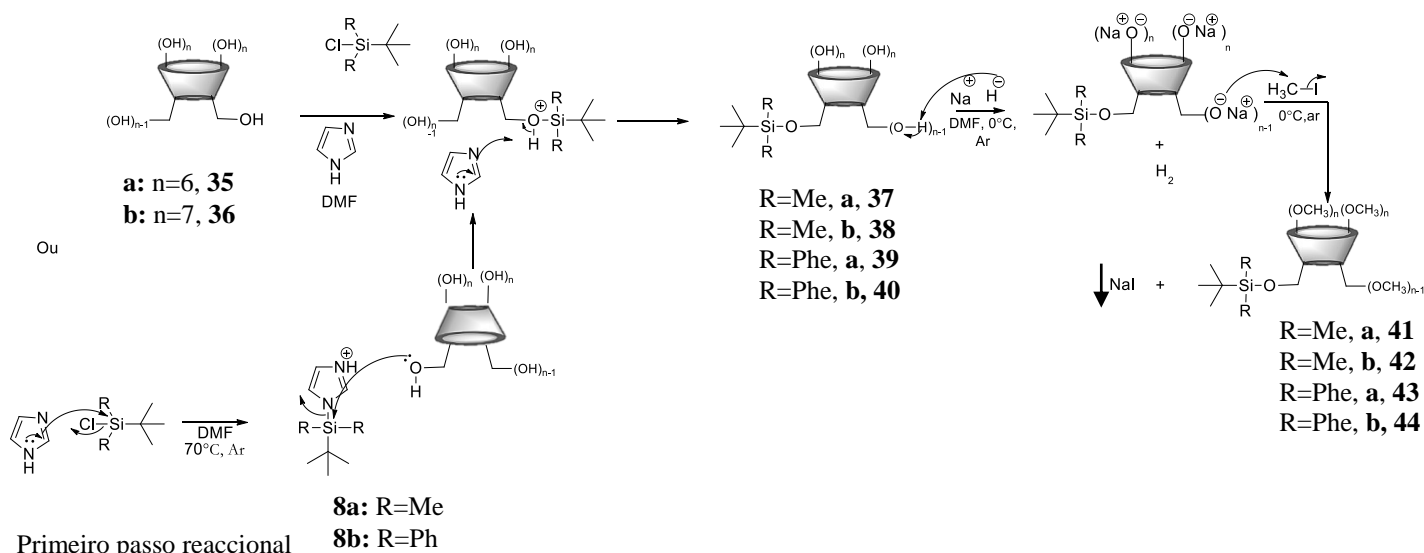
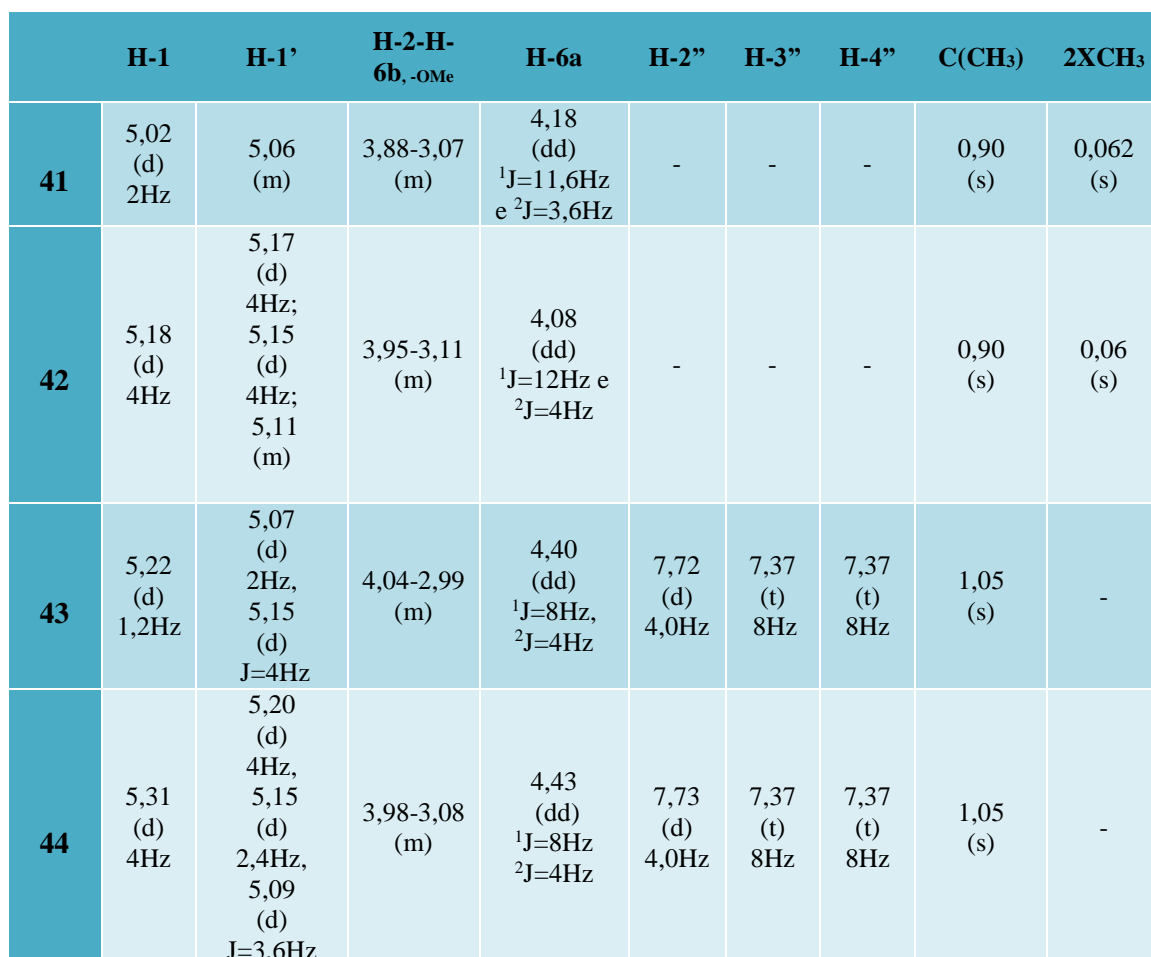


Figura 2.20. Protecção do grupo OH de uma unidade de glucopirranose da ciclodextrina em C-6 com TBDPS-Cl seguida de metilação dos restantes grupos hidroxilos para obtenção dos compostos monossililados permetilados **41-44**.



A caracterização de **41** e **42** foi realizada através da análise dos espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, ^{19}F -RMN e IV. A assimetria da derivatização na ciclodextrina pode ser evidenciada através de espectroscopia de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN através do sinal do átomo de hidrogénio ligado ao átomo de carbono anomérico (H-1). No caso da α/β -ciclodextrina a obtenção de um derivado puro corresponde a um sinal integrado para 6/7 prótons representando as 6/7 unidades de glucopiranosose da α/β -ciclodextrinas. Devido a H-1 encontrar-se ligado a um átomo de carbono com função acetal, tem ressonância numa frequência característica do espectro ($\delta \sim 5,0$ ppm). O facto de um monómero não

apresentar um padrão de substituição, a simetria é perdida sendo observado uma mistura de outros sinais no lugar do dubleto característico como podemos observar na **Figura 2.21**.

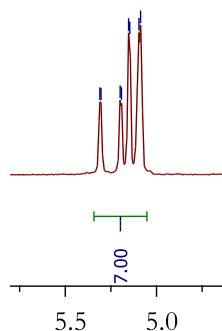


Figura 2.21.Ampliação dos sinais dos prótons anoméricos da β -ciclodextrina permetilada e monossililada

No espectro de ^1H -RMN dos compostos **43** e **44** o sinal do próton anomérico H-1 encontra-se a 5,22 (**43**) e 5,31 (**44**) ppm, com constantes de acoplamento de 1,2 e 4Hz respectivamente, e os prótons anoméricos H-1' encontram-se entre 5,20 a 5,07ppm ambos desdobrados em forma de dubleto com constantes de acoplamento de 3,6 a 4,0Hz. Esta constante de acoplamento deve-se ao ângulo diedro do acoplamento axial-equatorial ser de cerca de 90° caso em que as orbitais se encontram ortogonais. A campo baixo, a 7,72 (**43**) e 7,73 (**44**) ppm, observa-se um sinal em forma de dubleto integrado para os quatro prótons orto (H₂'') dos dois grupos fenilos do grupo protector TBDPS. A estrutura electrónica de cada anel aromático cria uma forte corrente induzida tendo como consequência um efeito anisotrópico muito intenso. O campo induzido que é gerado é equivalente ao campo criado por uma corrente de anel perpendicular e central levando a que os prótons se encontrem numa zona de desblindagem ocorrendo a sua ressonância para valores de desvio químico muito elevados numa região característica dos prótons aromáticos. A integração de dez prótons do grupo fenilo e 9 prótons para o sinal a 1,05 ppm relativo aos prótons do grupo *terc*-butilo permite a identificação dos composto **43** e **44** monossililados e os sinais a 0,90e a 0,06ppm do *terc*-butilo e dos dois metilos ligados ao silício respectivamente, permitem a identificação dos compostos **41** e **42**. A 4,18 (**41**), 4,08 (**42**), 4,40 (**43**), 4,43 (**44**) ppm encontra-se um sinal desdobrado em forma de dubleto de dubletos com ^1J entre 12 (**41** e **42**) e 8 Hz (**43** e **44**) e ^2J entre 4 (**41** e **42**) e 3,6 Hz (**43** e **44**) integrado para um próton, o próton diastereotópico Ha em C-6 da unidade de glucopiranosose sililada. Dado o ângulo diedro ser entre 120° e 180° há então uma maior sobreposição de orbitais e por consequência uma maior constante de acoplamento (12 ou 8 Hz) entre o próton em Ha no átomo de carbono C-6 e o próton no átomo de carbono C-5. Os prótons metilénicos da unidade de glucopiranosose mono-substituída em C-6 são diastereotópicos devido à existência de centro quiral em C-5. Por esta razão não são equivalentes sendo apresentados no espectro de ^1H -RMN desvios químicos distintos. A 4,0-3,08 ppm encontram-se os sinais dos prótons H-2 a H-6b e H-2'-H-6b, das restantes 6/7 subunidades de glucopiranosilo e respectivos grupos metoxi (a 3,5ppm).

No espectro de carbono também é possível identificar a assimetria da ciclodextrina com os sinais dos carbonos anoméricos existentes na região de 100,42-99,71 ppm em vez de um só sinal como se observa no caso em que a ciclodextrina é simétrica.

No espectro de IV é possível observar as bandas de deformação axial C=C a 1459 cm^{-1} e do sistema Si-O-C a 1000 cm^{-1} .

2.2.6.2 Obtenção do composto (2,3-di-*O*-metil)heptaquis(2,3,6-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose

Com o objectivo de desproteger o grupo hidroxilo em C-6, foi adicionado o sal F-TBA, solúvel em solventes orgânicos.

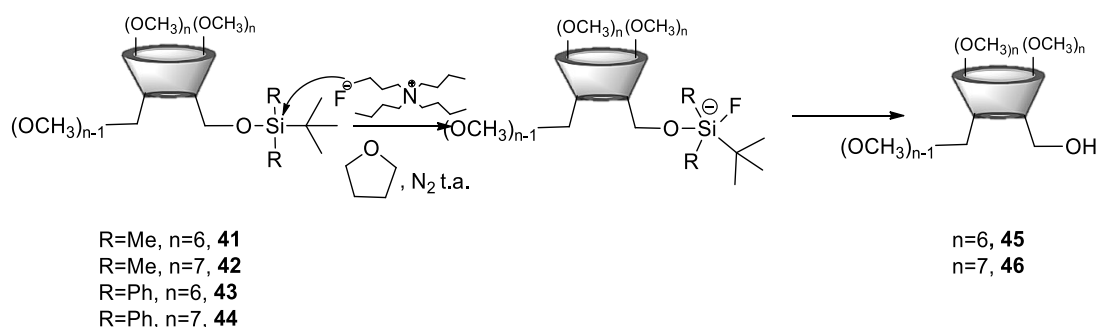


Figura 2.22. Desproteção de -OTBDPS e -OTBDMS para obtenção dos álcoois primários **45** e **46**.

O ataque nucleofílico do flúor ao átomo de silício promove a formação de um anião pentavalente **47-50** o qual se decompõe dando origem ao álcool desprotegido **45** e **46**.

2.2.6.3 Obtenção do líquido iónico triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-piridin-1-ilo)heptaquis (2,3,6-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose

Para obtenção do líquido iónico **55** foi realizada uma reacção de substituição no átomo de carbono C-6 numa unidade de glucopirranose da ciclodextrina **46**. Num primeiro passo forma-se o complexo reactivo **17** (solvente piridina). A formação desta espécie reactiva facilita o ataque nucleofílico do grupo hidroxilo em C-6 convertendo-o num excelente grupo de saída (CF_3SO_3^-) (**Figura 2.23**). Com a formação do composto muito reactivo **47** o ataque nucleofílico pela base (piridina) no átomo de carbono em C-6 é favorecido^[74,75] obtendo-se o líquido iónico **48**. Os produtos foram caracterizados por espectroscopia de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, DEPT e por espectroscopia de IV.

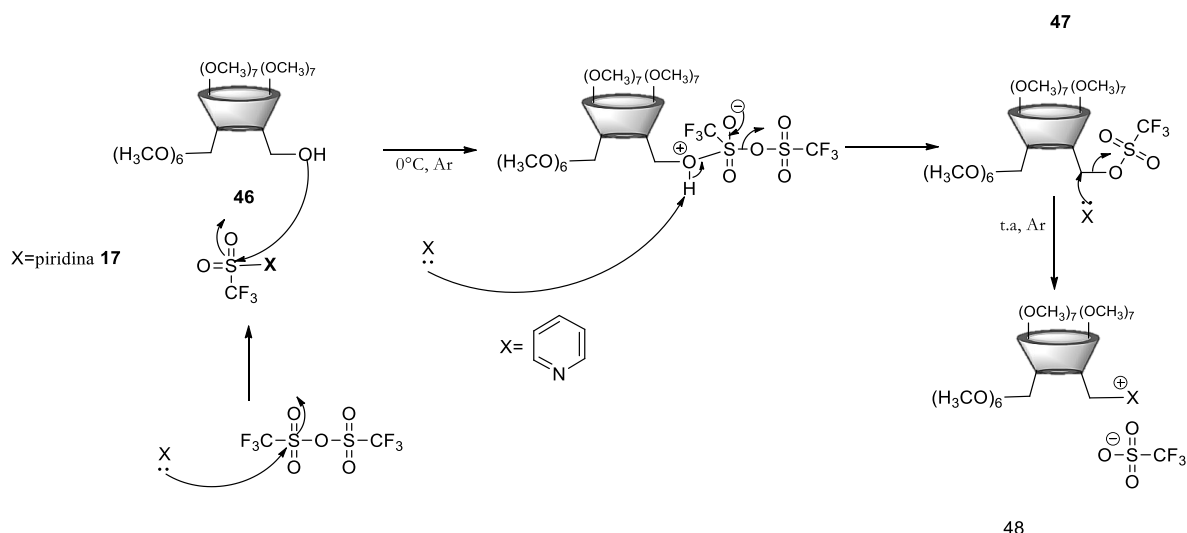


Figura 2.23. Síntese dos líquidos iónicos obtidos a partir da ciclodextrina β ^[58].

Através da análise do espectro de ^1H -RMN obtido é possível identificar os sinais relativos aos prótons da piridina. O átomo de azoto do subacto piridínio de **48** encontra-se electrodeficiente sendo que por esta razão os prótons encontram-se a campo mais baixo, mais desblindados, do que os prótons da molécula de piridina isolada. Como o átomo de azoto é electroattractor, a desblindagem dos prótons do anel aromático é mais evidenciada nas posições *orto* e *para* do anel aromático. Assim sendo a campo baixo, a 9,1 ppm, encontra-se um sinal desdobrado em forma de dubleto integrado para os dois prótons *orto* da piridina (H-1'') com constante de acoplamento ($^3J_{ab}$) de 6 Hz. A 8,51 ppm encontra-se um sinal em forma de tripleto, com constante de acoplamento ($^3J_{cb}$) de 7,6Hz, relativo ao próton na posição *para*. O tripleto a 8,04 ppm, com constante de acoplamento (H_{bc} e H_{ba}) de 6,8Hz, é referente aos dois prótons *meta* da piridina. A 5,34 ppm encontra-se um sinal em forma de dubleto de H-6a com constante de acoplamento de $^3J=12$ Hz. Esta constante de acoplamento elevada deve-se ao ângulo diedro entre H-6a e H-5 ser de cerca de 180° em que há sobreposição máxima das orbitais de ambos os átomos de hidrogénio. A 4,30 ppm encontra-se o sinal do próton H-6b com constante de acoplamento de $^3J=9,6\text{Hz}$. Os sinais dos prótons em C-6 da unidade de glucopirranose substituída com a piridina encontram-se a campo mais baixo devido ao efeito de desblindagem provocado pela electrodeficiência encontrada no átomo adjacente, o azoto da piridina. De 5,17-4,99 ppm encontram-se os sinais dos prótons anoméricos (H-1' e H-1). De 3,94-3,17 ppm encontram-se os prótons H-2-H-5 da subunidade de glucopirranose substituída com piridina e H-2'-H-6' das restantes 6 subunidades de glucopirranose (**Figura 2.23**).

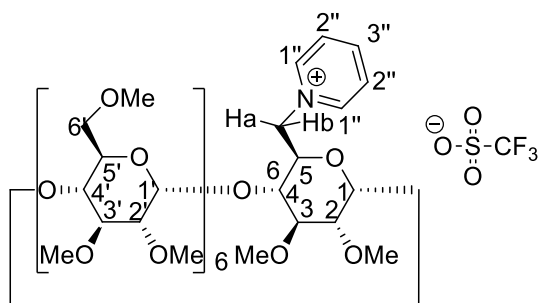


Figura 2.24. Líquido iónico **48**.

2.2.6.4 Síntese do composto triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridín-1-*io*) pentakis/hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexa/heptaose

A síntese dos líquidos iónicos com espaçadores envolve os seguintes passos: i) introdução do espaçador no grupo hidroxilo livre no átomo de carbono C-6, ii) desproteção do grupo hidroxilo do espaçador e iii) formação do líquido iónico.

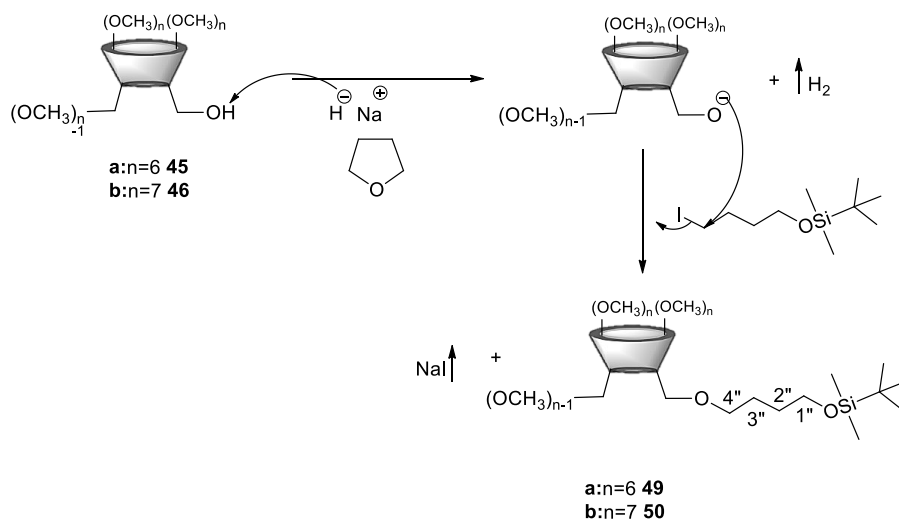


Figura 2.25. i) Síntese da ciclodextrina α e β permetiladas com espaçador.

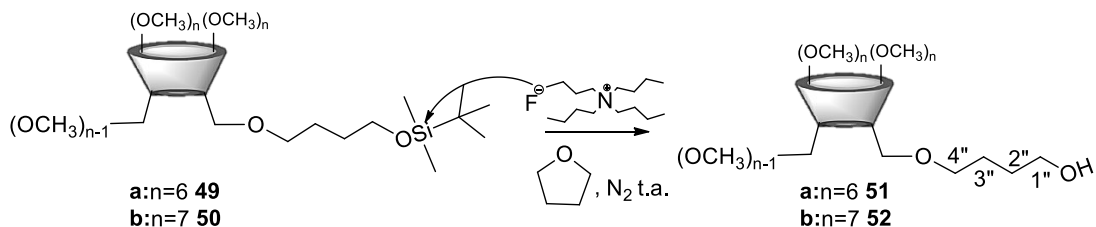


Figura 2.26. ii) Reacção de desprotecção do espaçador dos derivados da α e β ciclodextrinas **49** e **50**.

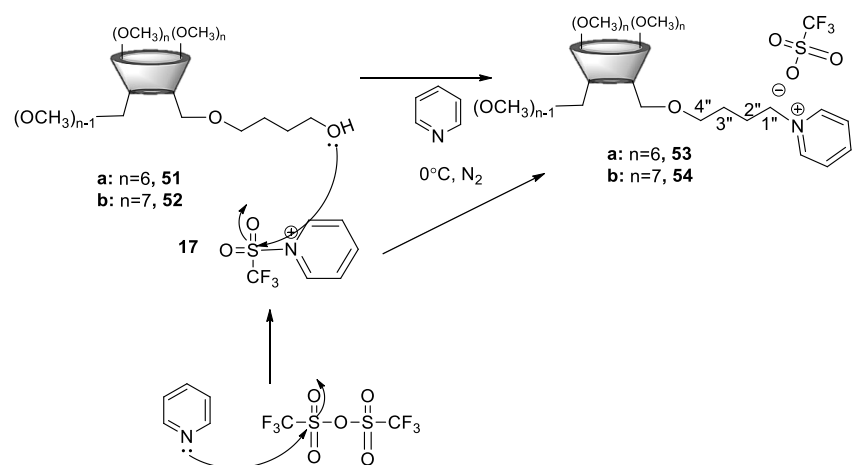


Figura 2.27.iii)-Síntese dos líquidos iônicos **53** e **54** obtidos a partir da ciclodextrina α e β .

	H-1	H-1'	H-2 e H-2'	H-3- H-6b, -OMe	H-6a	H-1''	H-2''	H-3''	H-4''	Protões da piridina	C(CH ₃)	2x CH ₃
49	5,16 (m)	5,16 (m)	3,28 (dd) ¹ J=8Hz e ² J= 4Hz	4,0-3,70 (m)	4,0-3,70 (m)	4,0-3,70 (m)	1,66 (q) J=8,4H z	1,75 (q) J=6,8Hz	4,0-3,70 (m)	-	1,0 (s)	0,15 (s)
50	5,11 (m)	5,03 (m)	3,17 (dd) ¹ J=8 e ² J= 4Hz	3,98-3,48 (m)	3,98-3,48 (m)	3,98-3,48 (m)	1,75 (q) J=5,6 Hz	1,67 (q) J=6,8Hz	3,98-3,48 (m)	-	1,0 (s)	0,15 (s)
51	5,05 (d) J=6Hz	5,05 (d) J=6Hz	3,17 (dd) ¹ J=7,2Hz e ² J=2Hz	3,90-3,36 (m)	3,90-3,36 (m)	3,90-3,36 (m)	1,70 (q) J=8Hz	1,63 (q) J=8Hz	3,90-3,36 (m)	-	-	-
52	5,12 (m)	5,12 (m)	3,17 (dd) ¹ J=9,2Hz e ² J= 2,3Hz	3,98-3,08 (m)	3,93	3,92-3,36 (m)	7,73 (d) J=4Hz	7,37 (q) J=8Hz	3,50 (t)	-	1,05 (s)	-
53	4,97 (d) J=3,2Hz	5,05 (d) J=6Hz	3,80-3,38 (m)	3,80-3,38 (m)	3,80-3,38 (m)	H _a - 4,79 (dt) ¹ J=12Hz, ² J=3J=8Hz, H _b -4,70 (dt) ¹ J=12Hz, ² J=3J=8Hz)	2,12 (q) J=6,8H z	1,68 (q) J=7,2Hz	3,80-3,38 (m)	<i>orto</i> : 9,04 (d) J=5,6Hz <i>meta</i> : 8,05 (t) J=8,0Hz <i>para</i> :8,47 (t) J=7,6Hz	-	-
54	5,03 (d) J=3,6Hz	5,12 (d) J=4,0 Hz	3,84-3,14 (m)	3,84-3,14 (m)	4,04 (dd), J=12 e 8Hz	Ha e Hb- 4,79 (dt) ¹ J=13,2Hz, ² J=3J=6,4Hz	2,15 (q, J=6,8H z)	1,73 (m)	3,84-3,14 (m)	<i>orto</i> :9,09 (d) J=5,6Hz <i>para</i> :8,47 (t) J=8,0Hz <i>meta</i> :8,06 (t) J=6,8Hz	-	-

Tabela 2.11. Tabela com os sinais de ¹H-RMN para os derivados de ciclodextrina sintetizado **49-54**.

Tendo em consideração os protões no átomo de carbono C-1'' dos derivados da α e β ciclodextrina **49** e **50** é possível observar-se na tabela acima descrita alteração dos desvios químicos destes protões nos produtos obtidos a partir da reacção de desprotecção do álcool primário **51** e **52**, e na formação dos líquidos iónicos **53** e **54**. No primeiro caso observa-se desvio para campo mais alto ao passo que no segundo caso é possível observar desvio dos sinais dos protões em C-1'' para campo mais baixo. A existência de dois sinais a 4,79 ppm e a 4,70 ppm (no caso do líquido iónico obtido a partir da α -ciclodextrina) bem como o desdobramento de cada sinal indicia que os dois protões se encontram em ambientes químicos distintos. A caracterização destes átomos de hidrogénio foi inferida através da análise do espectro de COSY (**Figura 2.29**) do composto no qual se observa a correlação com quinteto a 2,13 ppm do grupo metilénico em C2''. No espectro de NOESY (**Figura 2.30**) é possível observar a existência de uma fraca interacção entre os protões da piridina e os protões anoméricos H-1' que se

encontram na face exterior da ciclodextrina. A proximidade a um ambiente quiral faz com que os prótons adjacentes à piridina (H-1'') tenham ambientes químicos diferentes como se observou no espectro de ^1H -RMN. No sinal de cada próton metilénico H-1''a e H-1''b podemos observar um sistema ABX₂. O sinal de cada próton H-1'' encontra-se desdobrado em forma de duplo triplete com constantes de acoplamento de $^1J=12\text{Hz}$ do acoplamento H-1a'' geminal com H-1b'', $^2J=^3J=8\text{Hz}$ do acoplamento H-1a'' com os prótons metilénicos H-2''. A partir destes resultados podemos inferir que poderá ter ocorrido bloqueio do espaçador pela cavidade primária da ciclodextrina, ou distorção do anel da ciclodextrina provocada pela funcionalização em C-6 com o espaçador com o fragmento piridínio levando à clausura da cavidade da ciclodextrina diminuindo assim a possibilidade de formação de complexos de inclusão.

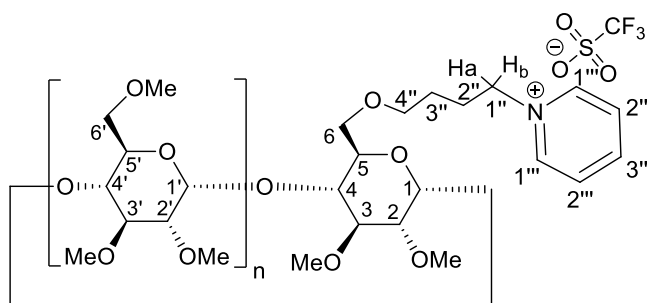


Figura 2.28. Líquido iónico **53**(n=5), **54** (n=6)

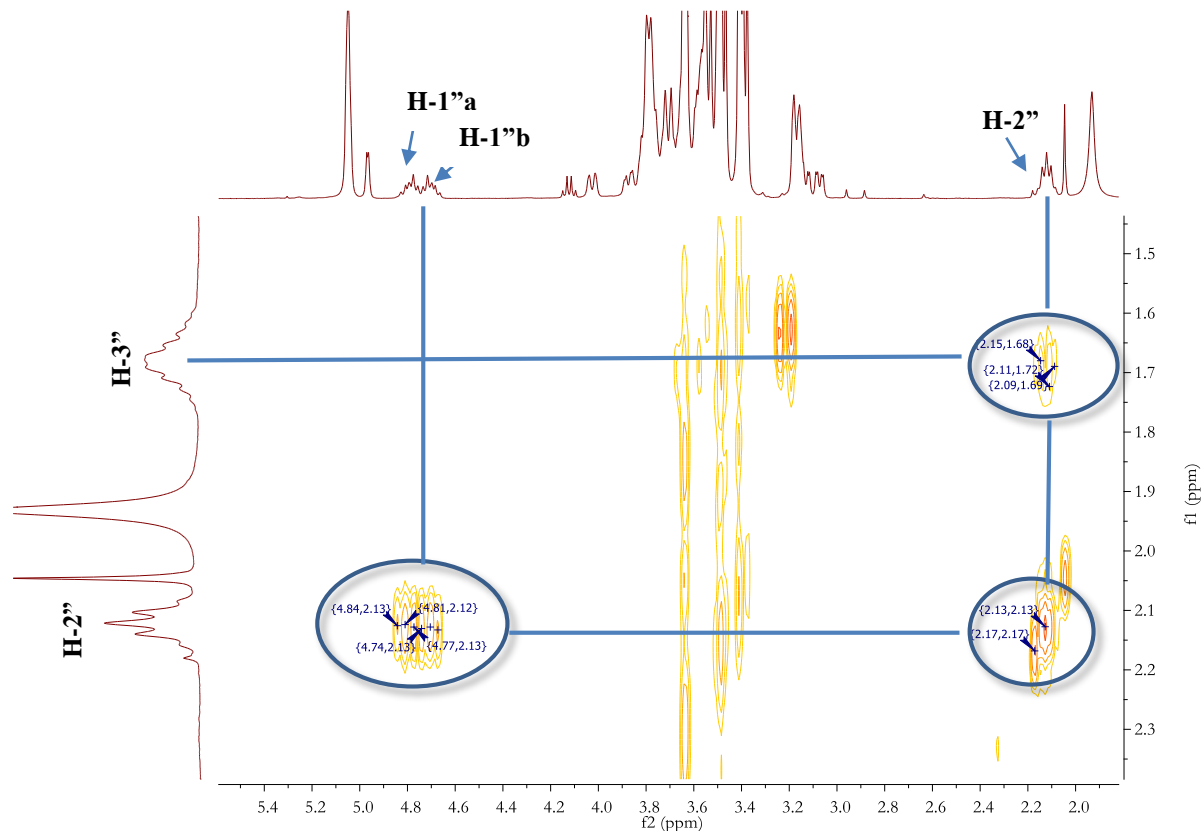


Figura 2.29. Espectro de COSY do líquido iónico sintetizado a partir da α -ciclodextrina. Correlação entre os prótons metilénicos H-1''a e b e H-2'' e H-2'' e H-3''.

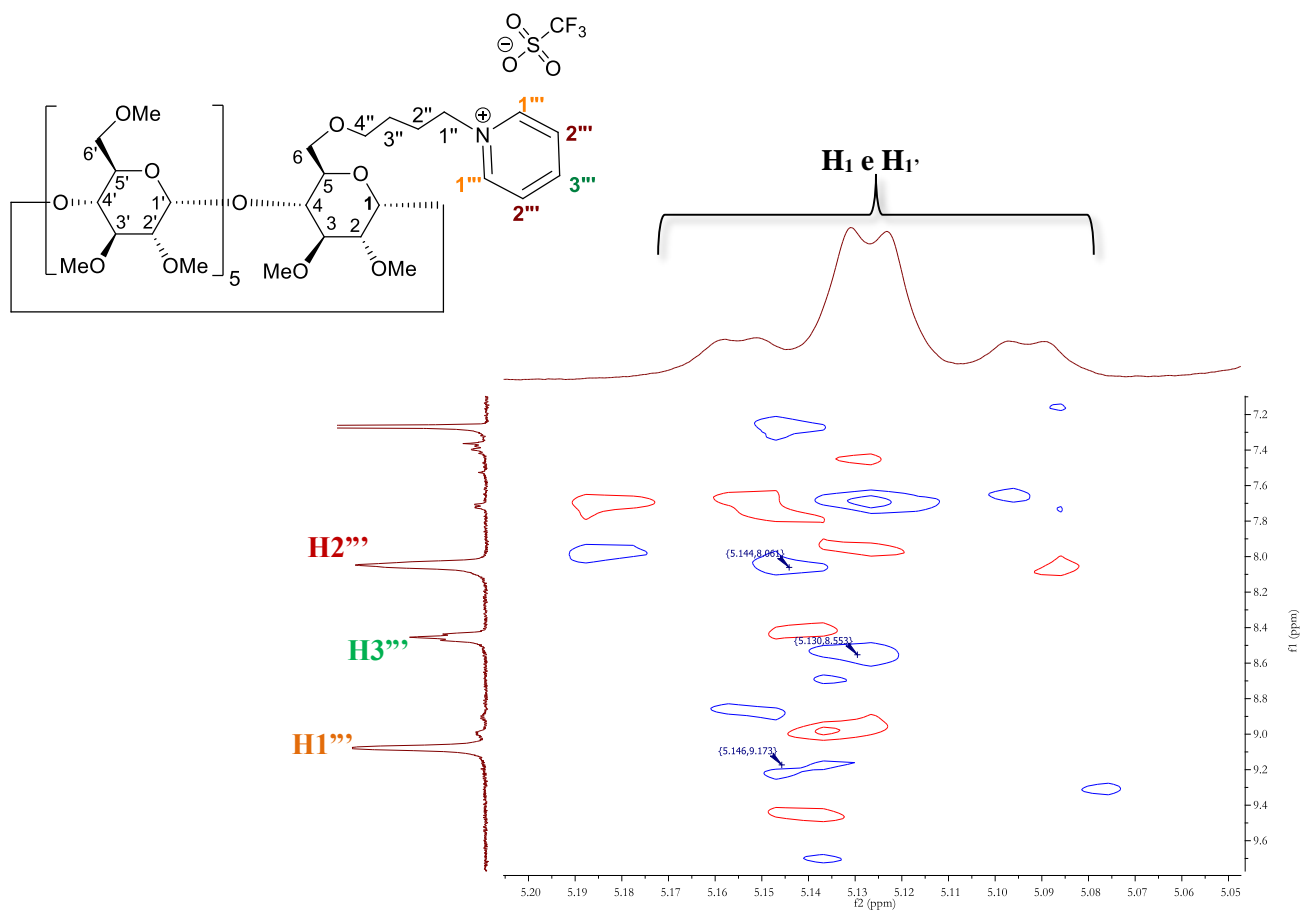


Figura 2.30. Espectro de NOESY do líquido iônico sintetizado a partir da α -ciclodextrina. Correlação entre os prótons do fragmento piridínio H-1''' - H-3''' e os prótons anoméricos da α -ciclodextrina.

2.3 Enchimento e performance das fases estacionárias

O grupo de investigação Manuela Pereira e colaboradores testou em cromatografia gasosa a eficiência enantiomérica de fases estacionárias constituídas por líquidos iónicos derivados de ciclodextrinas sintetizados em laboratório, nomeadamente o triflato de mono-6-deoxi-6-(piridínio)- α -ciclodextrina, o triflato de mono-6-deoxi-6-(piridín-1-íio)- β -ciclodextrina, o triflato de mono-6-deoxi-6-(1-vinil-1H-imidazol-3-íio)- α -ciclodextrina e o triflato de mono-6-deoxi-6-(1-vinil-1H-imidazol-3-íio)- β -ciclodextrina tendo sido obtida separação enantiomérica de ésteres (**Figura 2.31**) e éteres (epóxidos)^[58] com o líquido iónico triflato de mono-6-deoxi-6-(piridínio)- β -ciclodextrina.

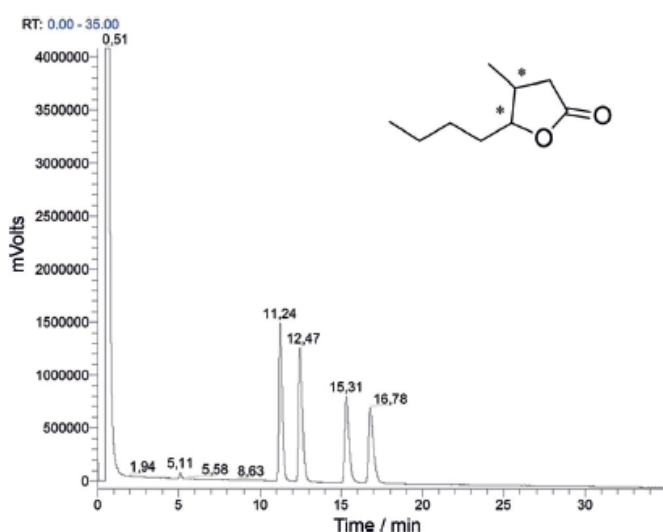


Figura 2.31. Cromatograma obtido para os quatro enantiómeros da lactona de Whisky. Injector e FID a 250°C. Gás de arraste hidrogénio, ajustado de modo a obter-se o pico de solvente a cerca de 0,50 min. Volume de injeção= 1 μ L de uma solução de 150 ppm em hexano. Forno do injector operado a 120°C isotérmica^[58].

Devido aos resultados obtidos neste estudo, foi testada a eficiência de discriminação enantiomérica das fases estacionárias representadas na **Tabela 2.12** (página 65) sintetizadas em laboratório pelo grupo de investigação a partir da α e β ciclodextrina, através de análises cromatográficas de misturas racémicas.

As fases estacionárias foram testadas em colunas com e sem tratamento prévio da superfície de sílica, passo anterior ao passo de imobilização da fase estacionária dentro da coluna através do método estático.

No método de pré-tratamento da superfície de sílica da coluna cromatográfica com rugosidades de NaCl (*whiskers*)^[80] é em primeiro lugar passada pela coluna de sílica uma solução com 1M de NaOH de modo a promover a desprotonação dos grupos hidroxilos da superfície de sílica favorecendo a formação de locais activos na coluna de sílica (**Figura 2.32**). De seguida é passada uma solução de HCl dando-se uma reacção de neutralização com formação de NaCl. O NaCl por sua vez forma interações electrostáticas com os átomos de oxigénios e com os átomos de hidrogénio do polímero de sílica (**Figura**

2.33). Dado que a nossa fase estacionária se trata de um líquido iónico as interações electrostáticas para com a sílica são reforçadas aumentando a afinidade deste para com a fase estacionária permitindo uma maior imobilização da fase estacionária na coluna cromatográfica.

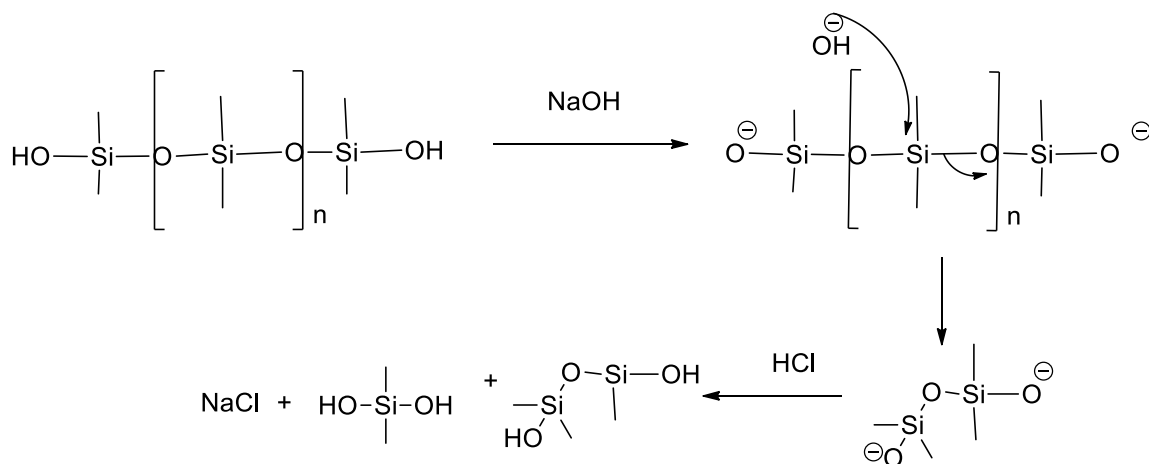


Figura 2.32. Mecanismo de degradação da sílica por tratamento de rugosidades de NaCl (*whiskers*).

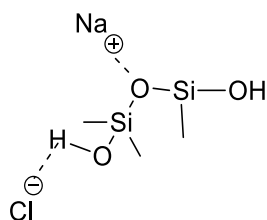
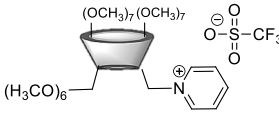
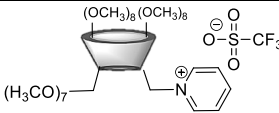
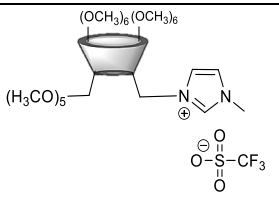
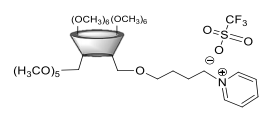


Figura 2.33. Interações electrostáticas na superfície de sílica tratada com o método de rugosidades de NaCl (*whiskers*).

O revestimento da coluna com a fase estacionária através do método estático ocorre com evaporação do solvente sob vácuo para que a fase estacionária seja imobilizada na superfície do capilar^[81].

Coluna	Fase estacionária	Concentração da solução	Método de pré-tratamento da coluna Rugosidades de NaCl	Método Estático	Comprimento da coluna (m)	Preparação (dias)
1 ¹		1,27mg β-CD- piridina, 6,72mg metilpiridínio	Sim	Sim	13	Secagem da cola:2 dias Pressionamento com azoto (5,5bar): 4 dias Evaporação: 2 dias em banho termostatizado A 40°C e sob pressão reduzida de 7mmHg
2 ²	Dispersa em cloreto de metil-piridínio Espessura: 0,32μm	3mL de CH ₂ Cl ₂	Não	Sim	13	
3 ²		1,2 mg γ-CD- piridina, 3,28 mg metil- piridínio,	Sim	Sim	13	
4 ³	Dispersa em cloreto de metil-piridínio ³ Espessura: 0,27μm	2mL CH ₂ Cl ₂	Não	Sim	13	
5 ⁴		1,85mg, 1mL de CH ₂ Cl ₂	Sim	Sim	15	
6 ⁴		10,4mg/5,4mL	Não	Não	15,38	Secagem da cola:2 dias Pressionamento com azoto(5,5mbar): 3 Evaporação:2 dias

¹ Fase estacionária sintetizada durante a tese e revestida a coluna pelo grupo de investigação.

² Fase estacionária sintetizada e revestida a coluna pelo grupo de investigação.

³ Cloreto de metilpiridínio sintetizado no laboratório pelo grupo de investigação.

⁴ Fase estacionária sintetizada durante a tese.

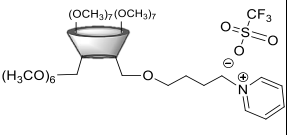
7 ⁵	 <p>Espessura: 0,23 μm</p>	10,2mg/5,2mL CH ₃ CN	Não	Não	15	Forno cromatográfico aquecimento a 70°C e sob pressão reduzida de 7,5 mm Hg
----------------	--	------------------------------------	-----	-----	----	--

Tabela 2.12. Fases estacionárias testadas em cromatografia gasosa.

2.3.1 Determinação da eficiência das colunas cromatográficas

A eficiência de uma coluna depende das dimensões da coluna (diâmetro, comprimento e espessura de filme), do tipo de gás de arraste, da razão de fluxo ou da média da velocidade linear, o composto e a sua retenção.

A eficiência das colunas cromatográficas é então definida pelo número de pratos teóricos relacionados também com a altura equivalente do prato (HEPT) obtidos para uma solução de hidrocarbonetos de C₈-C₂₀. Na **Tabela 2.13** bem como nos cromatogramas na **Figura 2.34** podemos observar elevada eficiência na coluna **2** tendo sido obtido maior número de pratos teóricos por metro de coluna (coluna **VII**) (3270,20 pratos teóricos por metro de coluna para um factor de retenção (k' de 6,95) e baixa eficiência (80,99 pratos teóricos por metro de coluna) na coluna **6** para um semelhante factor de retenção (k' =6,96). Na coluna **VIII** é possível observar os valores de HEPT calculados para as diferentes colunas. O valor mais baixo de HEPT é de 0,39cm/prato obtidos para a coluna **2** entrando em concordância com a elevada eficiência obtida nesta coluna já que quanto mais pequeno é o prato teórico, mais pratos são contidos em qualquer comprimento de coluna.

⁵ Fase estacionária sintetizada durante a tese

Coluna	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
	t _m	t _r	t _r '	k'	W _{1/2}	n	n/m	HEPT
1	0,8	6,11	5,31	6,4	0,7	319,3	26,67	3,76
2	1,26	10,02	8,76	6,95	0,1	42512,63	3270,20	0,39
		19,89	18,63	14,78	0,33	17656,62	1358,20	0,95
3	1,87	7,76	5,89	3,15	0,18	5931,92	456,30	0,20
		13,63	11,76	6,29	0,31	7972,61	613,27	0,15
4	0,99	6,63	5,69	5,70	0,50	717,45	55,189	1,67
6	0,51	3,47	3,47	6,80	0,22	1378,23	91,88	1,08
		7,47	6,96	13,65	0,47	1214,87	80,99	1,23
7	0,55	3,43	3,43	6,24	0,17	2255,27	150,35	0,66
		6,71	6,16	11,2	0,43	1136,93	75,79	1,32

Tabela 2.13. Características das colunas 1-7 à temperatura isotérmica de 80°C, split de 25mL/min, pressão de gás de arraste 15 kPa e fluxo de gás de arraste 0,5mL.m⁻¹. Volume da amostra injectada=1μL. t_m- tempo morto, t_r- tempo de retenção, t_r'- tempo de retenção ajustado, k' - factor de capacidade, W_{1/2} – largura do pico a meia altura, n- pratos teóricos obtidos nas diferentes colunas, n/m- pratos teóricos obtidos por metro de coluna.

A determinação da eficiência das colunas é normalmente usado para temperaturas isotérmicas dado que programa de temperatura resulta em pratos teóricos altamente inflacionados sendo seleccionados os picos cujo factor de retenção (coluna IV) é igual ou superior a 5. Como é possível observar-se na coluna VII da **Tabela 2.13**, contrariamente ao que era previsto, o maior número de pratos teóricos foi obtido para as colunas sem tratamento químico prévio (rugosidades de NaCl).

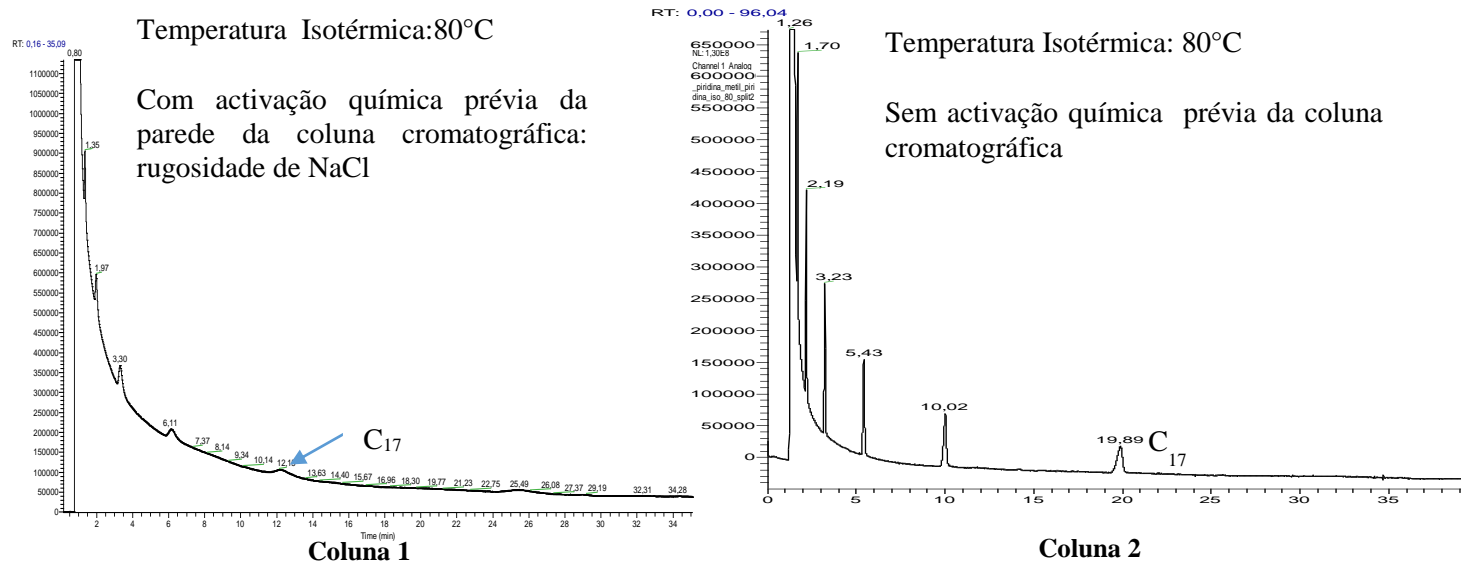
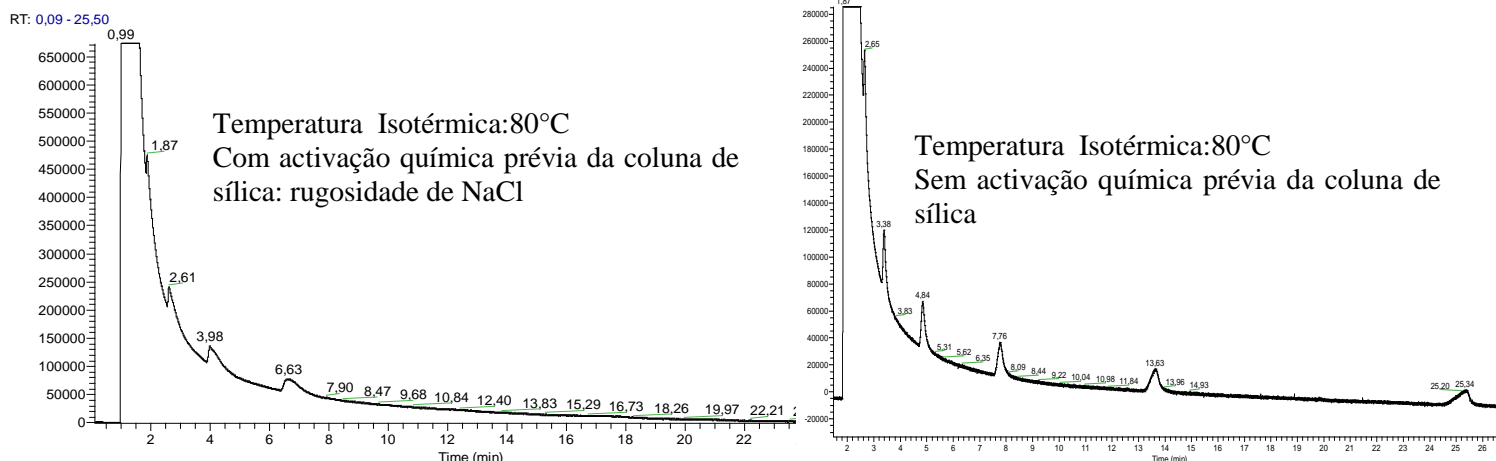


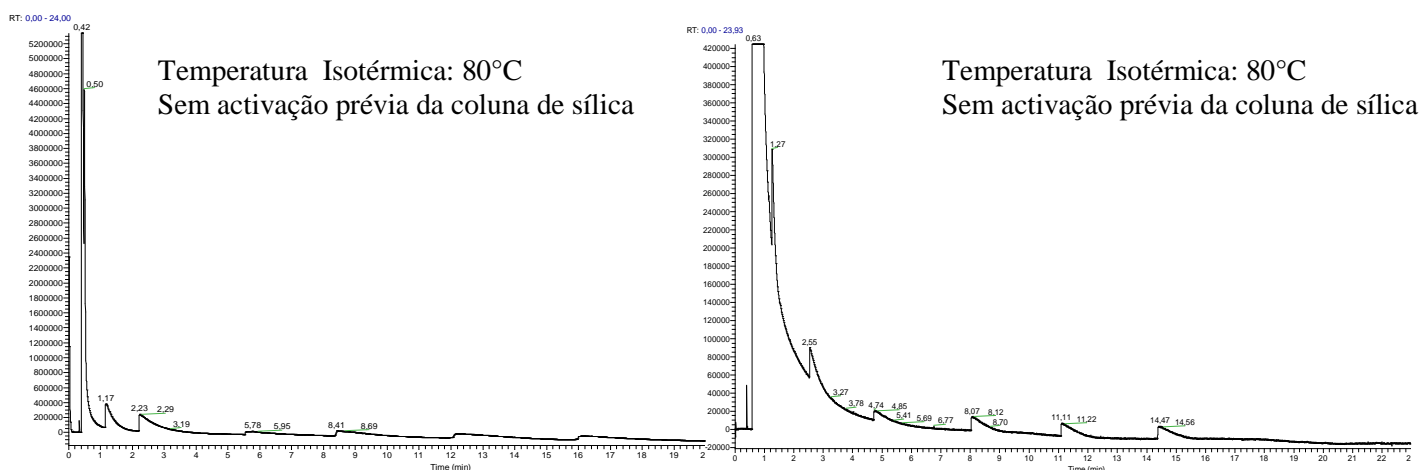
Figura 2.34. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C₈-C₂₀ (1 mL de cada solução de 40 ppm em hexano de cada hidrocarboneto) nas colunas 1 e 2. Volume de injeção: 1,0μL, split: 33mL/min, pressão de gás de arraste: 15kPa, e fluxo de gás de arraste 0,5 mL.s⁻¹.



Coluna 3

Coluna 4

Figura 2.35. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C₈-C₂₀ (1 mL de cada solução de 40 ppm em hexano de cada hidrocarboneto) nas colunas 3 e 4. Volume de injeção: 1,0 µL, split: 33 mL/min, pressão de gás de arraste: 30 kPa, e fluxo de gás de arraste 1,0 mL.s⁻¹.



Coluna 6

Coluna 7

Figura 2.36. Cromatogramas obtidos com programa de temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de hidrocarbonetos C₈-C₂₀ (1 mL de cada solução de 40 ppm em hexano de cada hidrocarboneto) nas colunas 6 e 7. Volume de injeção: 1,0 µL, split: 33 mL/min, pressão de gás de arraste 15 kPa, e fluxo de gás de arraste 0,5 mL.s⁻¹.

Na **Figura 2.36** é possível observar-se através dos cromatogramas obtidos para as colunas 6 e 7 o fenómeno de *tailing* nos picos cromatográficos obtidos para cada hidrocarboneto provocado por coeficientes de partilha não lineares.

O cálculo do número de pratos teóricos de uma mistura de hidrocarbonetos nas colunas 1-7 é essencial também para indicar se a coluna se encontra operacional e se a fase estacionária se encontra uniformemente imobilizada no interior da coluna. Dado os hidrocarbonetos serem compostos neutros os seus picos devem ser finos e simétricos^[17]. Assim sendo e através da análise da **Figura 2.36** é possível

observar picos simétricos e finos revelando uma maior imobilização da fase estacionária na coluna **2** em comparação com as colunas **1, 3, 4, 6 e 7**.

2.3.2 Teste de Grob

De modo a avaliar os diferentes tipos de adsorção entre os analitos e a fase estacionária foi realizado o teste de Grob com uma mistura padrão (os componentes da mistura encontram-se na **Tabela 2.14**).

Substância	Sigla	Quantidade dissolvida	Função
		em 20mL de solvente (mg)	
Decanoato de metilo	E10	42,3	Eficiência de separação – cálculo do número de separação -Tz
Undecanoato de metilo	E11	41,9	
Dodecanoato de metilo	E12	41,3	
n-Decano	C10	28,3	Eficiência da coluna, pratos teóricos
n-Undecano	C11	28,7	
1-Octanol	ol	35,5	Detecção de locais de formação de pontes de hidrogénio como silanol
Nonanal	Al	40	Detecção de adsorção dos aldeídos saturados que não seja por pontes de hidrogénio
2,3-Butanodiol	D	53	Detecção de locais de formação de pontes de hidrogénio como silanol
2,6-Dimetilanilina	A	32	Caracterização ácido/base da superfície pela altura ou área do pico
2,6-Dimetilfenol	P	32	
Diciclohexilamina	am	31,3	
Ácido 3-etil-hexanóico	S	38	

Tabela 2.14. Componentes da mistura de Grob e respectiva função.

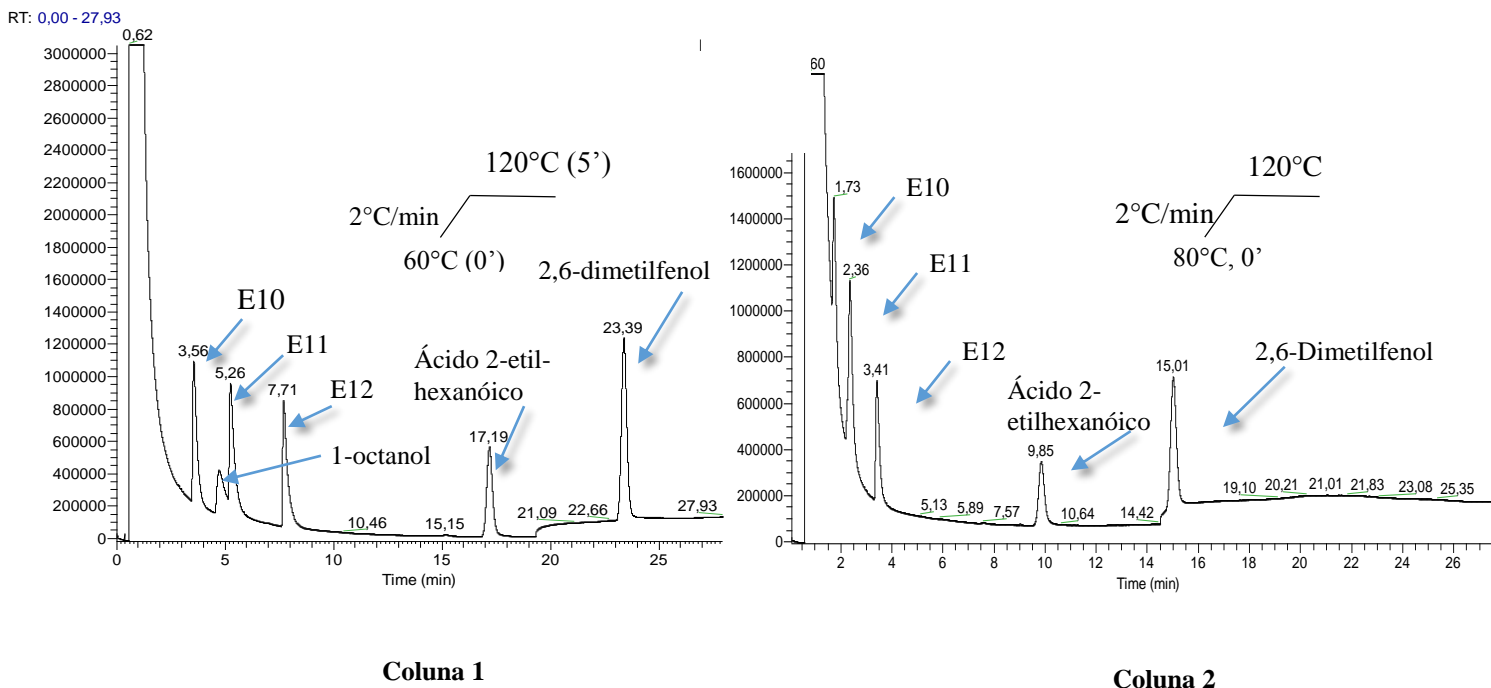
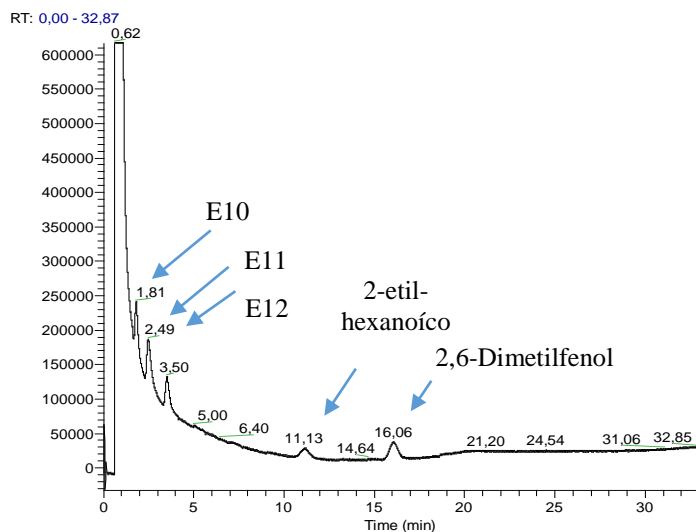


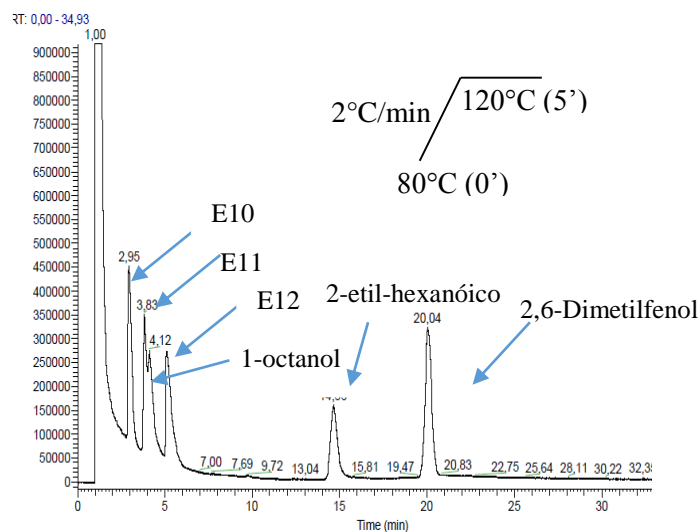
Figura 2.37. Cromatogramas obtidos nas colunas **1** e **2** para uma solução de 1/20mL da mistura de Grob com programa gradiente com início em 60°C rampa de 2°C/minuto até 120°C e programa gradiente com início em 80°C rampa de 2°C/minuto até 120°C. Volume de injeção=1,0µL, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s⁻¹ e 0,33mL.s⁻¹

Nos cromatogramas da **Figura 2.37** das colunas **1** e **2** é possível observar-se sangramento da coluna a 120°C, através da subida da linha de base aos 19,2 minutos na **coluna 1** e aos 14,42 minutos na **coluna 2**.

Usualmente quando é realizado o teste de Grob é traçada uma curva que passa pelo máximo dos picos dos dois alcanos e dos três ésteres. Estes são normalmente tomados como referência sendo traçada uma linha a 100% (**Figura 1.11** página 16) já que são sempre eluídos quantitativamente e sob a forma de picos simétricos. No entanto não foi possível traçar esta linha nos cromatogramas obtidos para as fases estacionárias testadas pois os picos dos hidrocarbonetos não foram observados dado os seus baixos tempos de retenção. Observando a redução do pico do 1-octanol face aos picos dos ésteres nas colunas **1** e **4** é possível inferir que ambas contêm características polares. Não foi possível observar características ácido-base em ambas as colunas dado a altura dos picos do ácido 2-etil-hexanoíco que se encontram a 100% de acordo com a linha (**Figura1.11**, página16).



Coluna 3



Coluna 4

Figura 2.38. Cromatogramas obtidos nas colunas 3 e 4 para uma solução de 1/20mL da mistura de Grob com programa gradiente com início em 60°C rampa de 2°C/minuto até 120°C e programa gradiente com início em 80°C rampa de 2°C/minuto até 120°C. Volume de injeção=1,0μL, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s⁻¹ e 0,33mL.s⁻¹

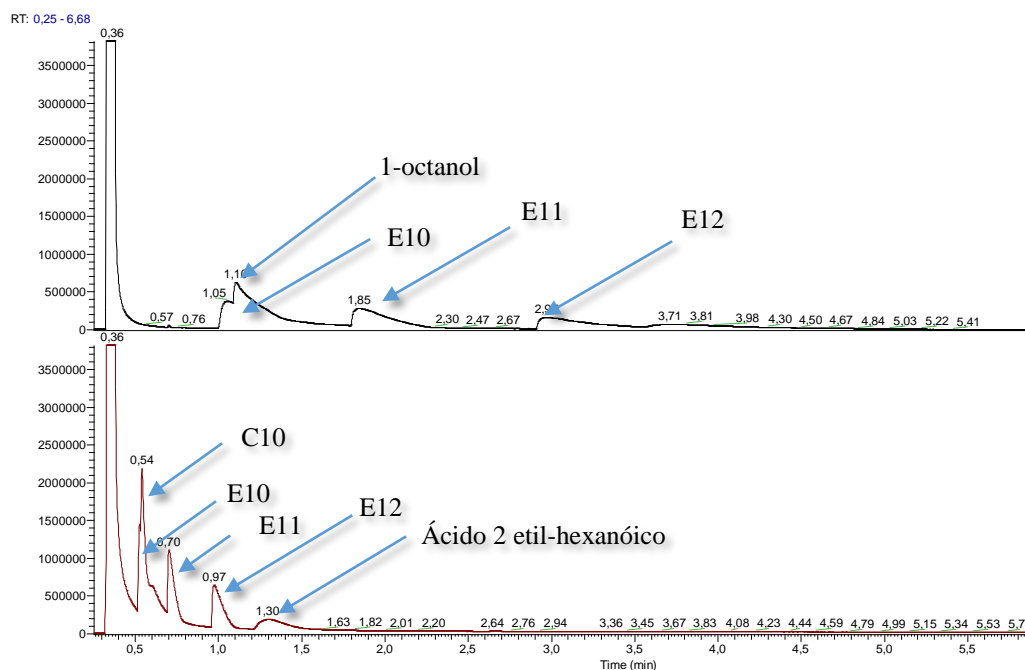


Figura 2.39. Cromatogramas obtidos do teste de Grob realizado nas colunas 6 e 7 sem tratamento químico prévio com programa com início em 80°C, rampa de 2°C/min até 120°C, pressão de gás de arraste 15 kPa e fluxo de gás de arraste 1 mL.min⁻¹.

Nas colunas 1, 3 e 6, através da análise dos cromatogramas obtidos para a mistura de Grob, apenas é possível obter informação acerca dos números de separação através dos éteres E10, E11, E12. No cromatograma obtido para a coluna 7 a redução (embora pouca) do pico do ácido 2-etilhexanoico é possível inferir que a coluna tem características ácidas.

Em todos os cromatogramas obtidos para as diferentes colunas testadas os três éteres da mistura de Grob são facilmente reconhecidos por serem equidistantes. Os valores dos números de separação para os ésteres E10, E11, e E12 foram calculados para cada coluna. A maior eficiência de separação observou-se na coluna **2** (**Tabela 2.15**) com número de separação de TZ de 5,26 para o programa de temperatura gradiente com início em 80°C rampa de 2°C/minuto até 120°C. A partir dos tempos de retenção dos três ésteres e a partir da largura a meia altura de cada pico foram obtidos (**Equação 9**) os valores de número de separação que se encontram na **Tabela 2.15**.

$$T_z = \frac{t'_{rE12} - t'_{rE11}}{w_{1/2}^{(E11)} + w_{1/2}^{(E12)}} - 1$$

Equação 9. Cálculo do número de separação Tz. t'_{rE12} -tempo de retenção ajustado do éster E12, t'_{rE11} -tempo de retenção ajustado do éster anterior E11 e $W_{1/2}$ – largura dos picos de retenção obtidos para os ésteres a meia altura.

Programa de temperatura	1	2	3	4	5	6	7	8
	Número de separação							
2°C/min / 120°C 80°C	3,35	5,26	1,06 e 1,55	1,38 e 1,98	-	0,84	0,95 e 0,89	2,21 e 1,41

Tabela 2.15. Número de separação obtido para cada coluna testada calculados através dos tempos de retenção dos ésteres do teste de Grob realizado em todas as colunas.

Apesar da eficiência de separação ser maior para a **coluna 2** do que para as restantes, os valores de número de separação demonstram deficiente eficiência de separação dado que colunas com razoável eficiência de separação apresentam valores de número de separação acima dos 25 para cada T_z [27].

Para testar a eficiência de separação enantiomérica da fase estacionária foi adicionado também à mistura o ácido 2-etilhexanoico racémico, tendo sido apenas obtido um pico nos cromatogramas obtidos.

Não foram observados picos do aldeído 1-nonanal, do 2,3-butanodiol nem da Diciclohexamina nos cromatogramas obtidos para o teste de Grob realizado nas diferentes colunas.

2.3.3 Teste de Polaridade da coluna

De modo testar a polaridade das colunas foi utilizado o método de *Rohrschneider-McReynolds*. A interacção de grupos funcionais polares é refletida através da diferença dos seus índices de retenção numa fase estacionária polar e numa fase estacionária apolar.

A polaridade da coluna dependerá não só da fase estacionária como também do tipo de substância analisada.

As interações individuais ou a combinação de interações de cada composto teste (benzeno, 2-pentanona, 1-butanol, 1-nitropropano e piridina) para com a fase estacionária foram caracterizadas através da comparação entre tempos de retenção obtidos para as fases estacionárias em questão de cada composto teste e os tempos de retenção obtidos para uma fase estacionária constituída por esqualano (fase estacionária apolar).

O factor determinante para a retenção dos compostos na coluna testada é a volatilidade dos solutos. Tal é comprovado pelos tempos de retenção do benzeno, 2-pentanona. O facto de a piridina ter um maior tempo de retenção, na **coluna 1** do que o 1-butanol e o 1-nitropropano indicam que as interações dipolares fracas de um fraco aceitador de protões provavelmente serão as interações mais intensas dos analitos para com a fase estacionária. O tempo de retenção obtido para o 1-butanol comprova que a segunda interacção mais intensa dos analitos para com a fase estacionária da **coluna 1** são as propriedades de orientação e de doador ou aceitador de protões. No caso da **coluna 2** verifica-se um tempo de retenção muito baixo (0,11 minutos) para a piridina e maior tempo de retenção para o 1-butanol. Tal indica que as interações mais importante são as propriedades de orientação assim como as propriedades de doador e aceitador de protões.

Considerando os coeficientes $a=1$, $b=1$, $c=1$, $d=1$ e $e=1$ foi possível determinar as constantes de fase (**Equação 10**) para o benzeno (X'), 1-butanol (Y'), 2-pentanona (Z'), 1-nitropropano (U'), e piridina (S') as quais foram calculadas através da diferença entre o índice de retenção de Kovats para cada molécula-teste na coluna polimerizada e na coluna de esqualano.

$$X' = I_a - I_{\text{esqualano}}$$

Equação 10. Cálculo da constante de fase para o benzeno (X'). I_a – índice de Kovatz para a fase estacionária triflato mono-6-metilpiridinium- β -ciclodextrina permetilada dispersa no líquido iónico triflato metilpiridínio com tratamento de whiskers.

Através da **Tabela 2.16** podemos observar índices de Kovatz mais elevados para as colunas com as fases estacionárias sintetizadas no laboratório face aos índices de Kovatz obtidos para a coluna de esqualano indicando assim que todas as colunas são claramente polares. Nas colunas **2**, **3** e **4** as interações mais importantes são as interações de doador e aceitador de protão ou interações dipolares dado o elevado número de contante de fase obtido para o 1-butanol. A constante de fase da piridina, na coluna com fase estacionária **2** é muito reduzida demonstrando assim a fraca interacção da fase

estacionária para com compostos hetero-aromáticos (interacções $\pi - \pi$ fracas). Conclui-se também que as interacções dipolares fracas de um forte aceitador de protões bem como as interacções dipolares de um aceitador de electrões, para esta fase estacionária são muito fracas ou até mesmo nulas.


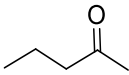
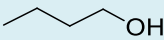

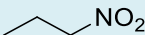
Composto teste	1	2	3	4	6
	0,12	0,11	1,71	0,1	0,15
	0,31	0,29	1,96	0,29	4,27
	0,57	0,73	2,61	0,51	0,11
	0,74	0,07	3,36	2,46	0,31
	0,35	0,5	3,68	1,24	2,5

Tabela 2.16. Tempos de retenção dos compostos teste obtidos nas colunas com a fase estacionária triflato mono-6-metilpiridínio- β -ciclodextrina permetilada dispersa no líquido iónico metil-piridínio com tratamento prévio químico(a), sem tratamento prévio químico (b) e com a fase estacionária apolar (equalano). O tempos de retenção dos compostos-teste nas colunas testadas foram obtidos para um temperatura isotérmica 80°C, volume de injeção=1,0 μ L, pressão de gás de arraste: 10kPa, Fluxo de gás de arraste: 0,5mL.s⁻¹ e 0,33mL.s⁻¹.


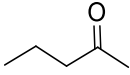
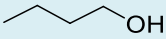

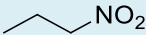
Índices de Kovatz	1	2	3	4
	761,632	981,670	761,632	981,670
	1054,912	1187,300	1054,912	1187,300
	1271,583	1448,08	1271,583	1448,08
	1058,978	739	1058,978	739
	1088,25	1401,143	1088,25	1401,143

Tabela 2.17. Índices de Kovatz obtidos nas colunas testadas calculados a partir dos índices de retenção obtidos para os compostos teste(Tabela 2.16).

Composto teste	1	2	3	4
X'	137,63	357,67	200,55	202,29
Y'	407,92	540,30	196,07	527,24
Z'	683,58	860,08	303,21	810
U'	351,99	32	596,76	1109,07
S'	441,25	754,14	706,24	869,73

Tabela 2.18. Constantes de fase das colunas **1-4**, obtidas para os compostos teste X', Y', Z', U', S', calculadas através do índice de Kovatz obtido para as colunas **1-4**.

Índice de Kovatz coluna esqualano (80° isotérmico)
624
647
588
707
647

Tabela 2.19. Índices de Kovatz de uma coluna de esqualano^[30].

De modo a calcular a polaridade total da fase estacionária das colunas **1-4** foi primeiramente determinado o somatório das constantes de fase de cada composto teste através da **Equação 11** e de seguida calculada a polaridade total de cada coluna através da **Equação 12** onde se observou maior polaridade na coluna **4** (P.T.= 79,30) face às restantes colunas (**Tabela 2.20**).

$$\Delta I = X' + Y' + Z' + U' + S'$$

Equação 11. Somatório das constantes de fase das moléculas-teste. X', Y', Z', U' e S' tratam-se das constantes de fase para as moléculas de benzeno, 2-pentanona, 1-butanol, piridina e 1-nitropropano respectivamente.

$$P.T. = \frac{\Delta I x 100}{4437}$$

Equação 12. Cálculo da polaridade total de uma coluna. ΔI - somatório das constantes de fase das moléculas-teste.

1	2	3	4
45,58	57,34	45,14	79,30

Tabela 2.20. Polaridade total das colunas **1-4** testadas.

Não foi possível calcular a polaridade total das fases estacionárias **5, 6 e 7** pois não se observou retenção do benzeno, e do 1-nitropropano.

2.3.4 Amostras quirais testadas

Nas colunas 1-7 foram testadas soluções com os compostos racêmicos representados na **Figura 2.40**.

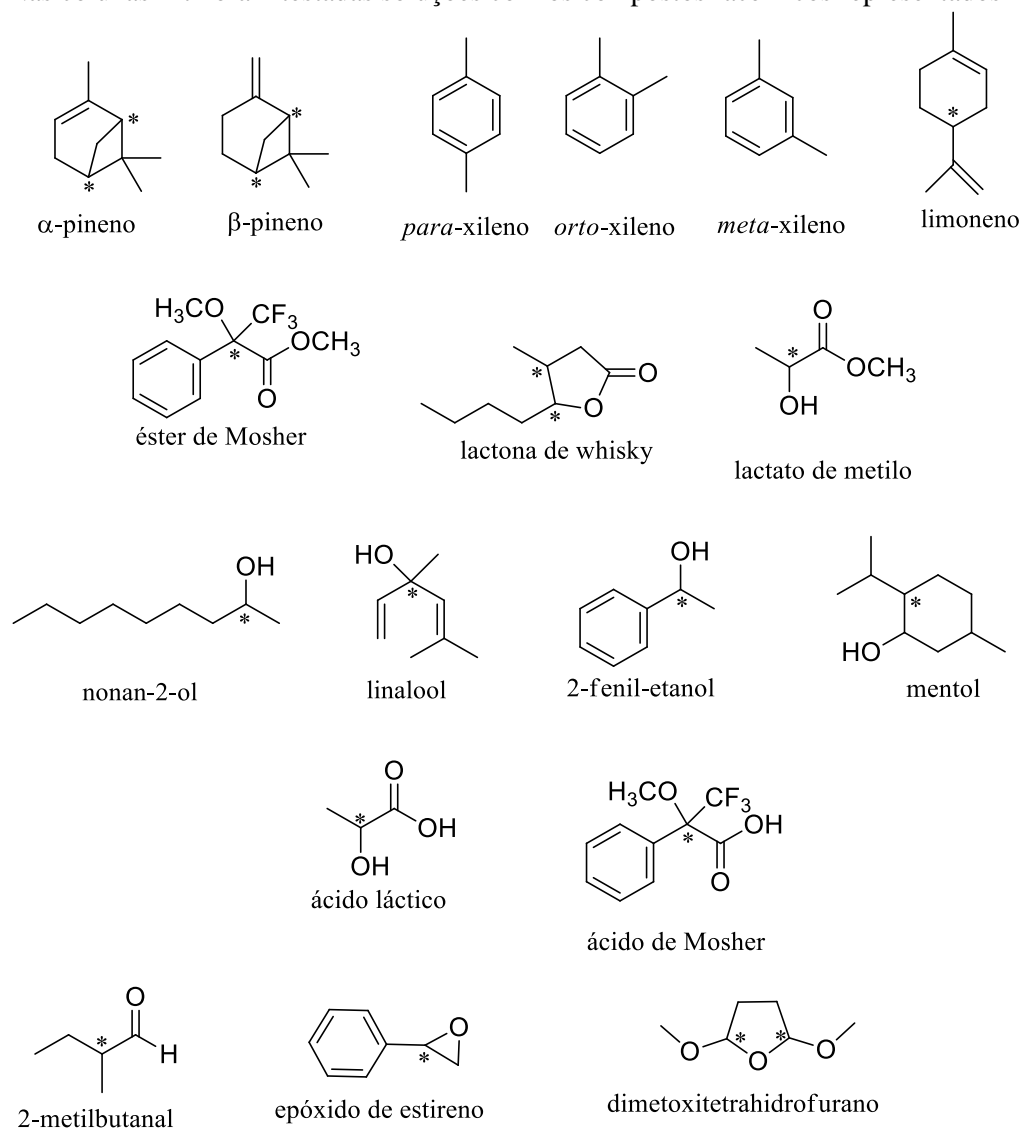


Figura 2.40. Compostos testados nas colunas 1-7.

Coluna 1 e 2

Dado o elevado número de pratos teóricos obtidos na **coluna 2** para uma mistura de hidrocarbonetos (3240 pratos teórico por metro de coluna), foram testados os isómeros estruturais apolares *para*, *meta* e *orto*-xileno tendo-se apenas observado separação do isómero *orto* (**Figura 2.41**).

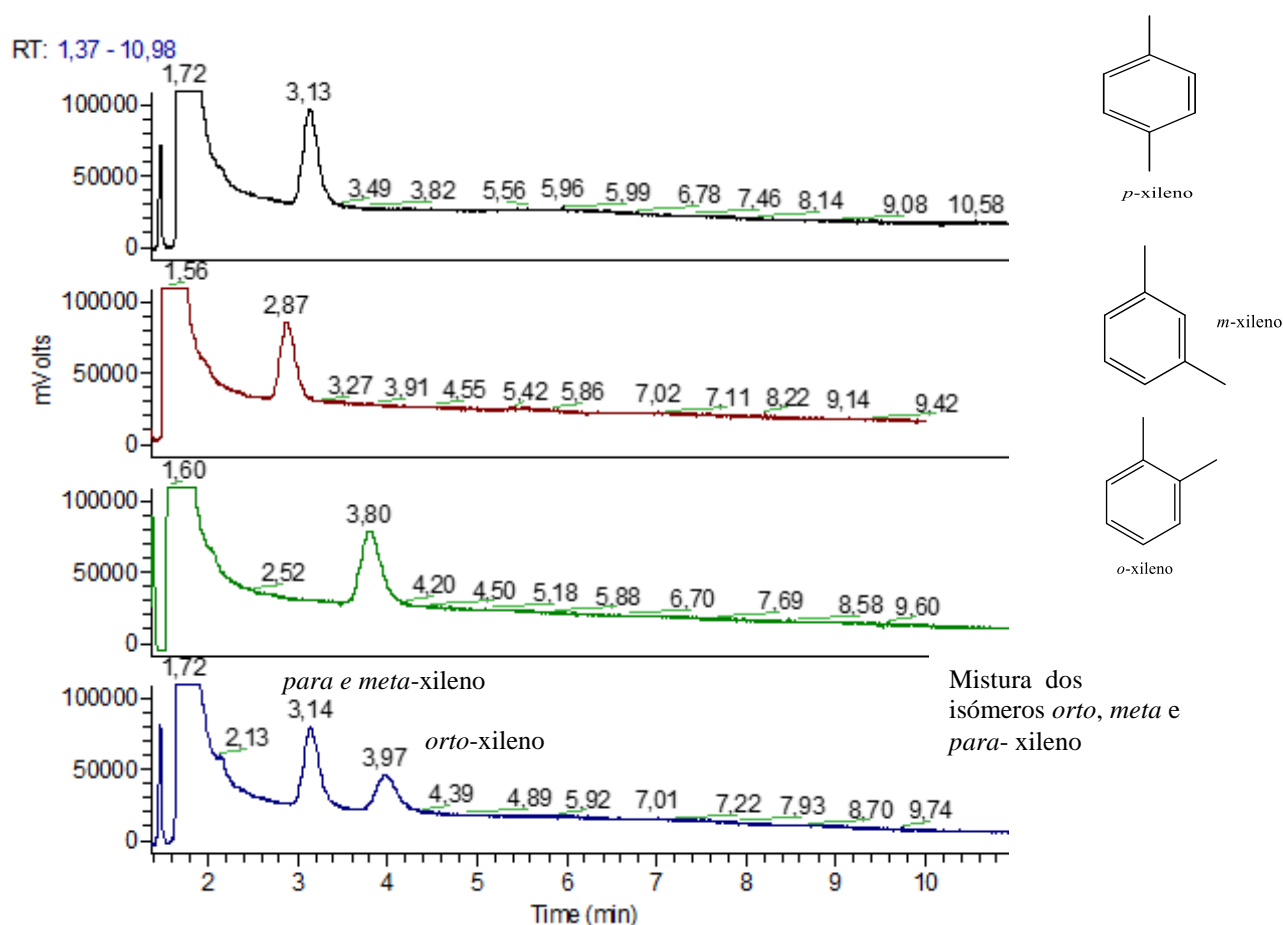


Figura 2.41. Cromatogramas obtidos para uma mistura de *orto*, *meta* e *para*-xileno. Programa de temperatura isotérmica de 60°C, split= 33mL/min, pressão de gás de arraste 25kPa e fluxo de gás de arraste 1,5mL.min⁻¹, volume da amostra injectada=1μL.

Os ésteres L(-) e D(+)-metil lactato e o éster de Mosher foram também testados com as condições de programa de temperatura isotérmica entre 80 e 120°C com fluxos de gás de arraste 1,5mL/minuto, split 50mL/min, não se tendo observado separação. Em relação aos ácidos testados (ácido de Mosher e ácido láctico) não foram observados picos cromatográficos com programa de temperatura isotérmica entre 80 e 120°C e fluxo de 1,5mL/min mesmo com split baixo (25 ml/min). A ausência de picos cromatográficos nos cromatogramas obtidos poderá indicar elevada afinidade dos compostos para com a fase estacionária ou a ausência de afinidade tendo o mesmo tempo de retenção que o solvente. Nos cromatogramas obtidos para uma solução de 1000ppm com uma mistura racémica de linalool, observou-se uma possível discriminação enantiomérica no entanto não foi possível observar uma eficiente separação dos enantiómeros como se pode observar na **Figura 2.42** dado o reduzido tempo de retenção de cada enantiómero na fase estacionária. Um maior factor de separação ($\alpha = 1,40$) foi obtido para a corrida cromatográfica com fluxo de 1,5 mL.min⁻¹.

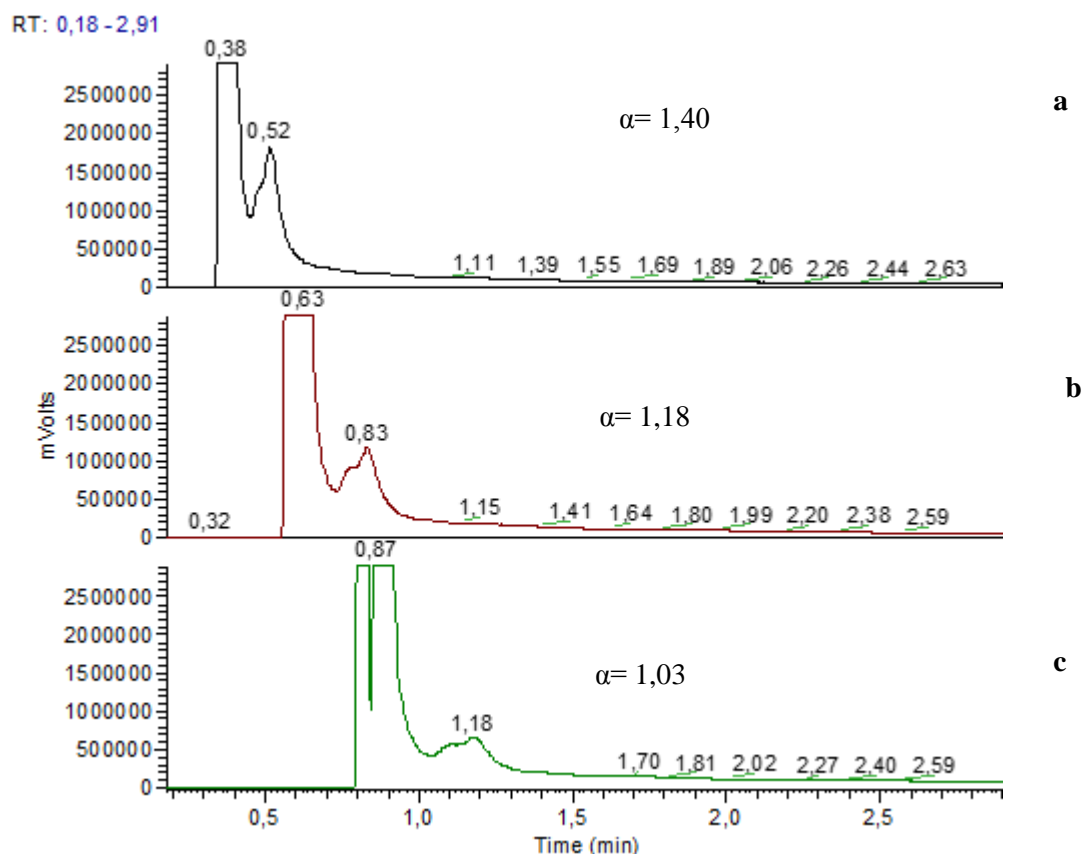


Figura 2.42. Cromatograma obtido para uma solução de linalool 1000 ppms. Fluxo de gás de arraste 1,5mL/min (a), 1mL/min (b) e 1,5mL/min(c) com programa de temperatura isotérmica de 50°C. Volume de injeção da amostra:1,0 μ L, concentração da amostra 1000 ppm.

Não se observou também qualquer separação nas restantes misturas racémicas de álcoois testados, nomeadamente o mentol, feniletanol e 2-nonanol. Todas as soluções com misturas racémicas de álcoois foram testadas às temperaturas isotérmicas de 60°C, 80°C e 100°C, com fluxos de 0,5, 1,0 e 1,5 mL/min.

No cromatograma obtido para uma solução de 1000 ppm de uma mistura racémica de 2,5-dimetoxitetrahydrofurano observou-se apenas discriminação diastereomérica com a existência de dois picos embora com co-eluição tendo-se obtido um maior factor de separação ($\alpha=0,22$, **Figura 2.43a**) para as condições de temperatura de 60°C e fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ comparativamente ao factor de separação obtido com corrida de programa de temperatura isotérmica a 50°C ($\alpha=0,09$, **Figura 2.43b**).

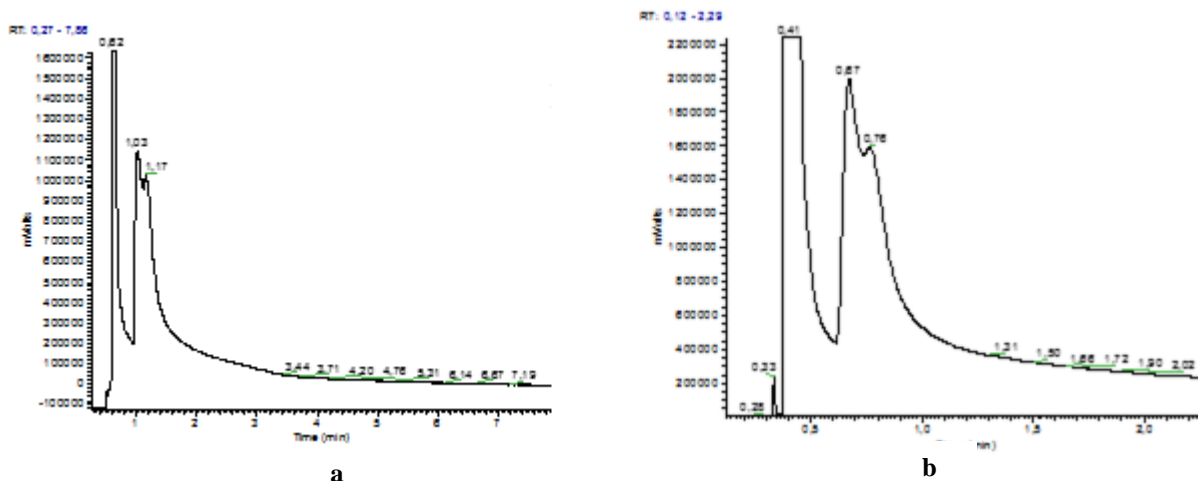


Figura 2.43. Cromatogramas obtidos para uma solução de 1000 ppms de dimetoxitetrahydrofurano à temperatura isotérmica de 60°C (a) e 50°C (b). Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min⁻¹, volume da amostra injectada=1 µL.

Através da análise de uma solução 250 ppm racémica de lactona de whisky com corrida cromatográfica de programa de temperatura 80°C isotérmica foi também observada apenas discriminação diastereomérica ($\alpha=1,3$) (Figura 2.44).

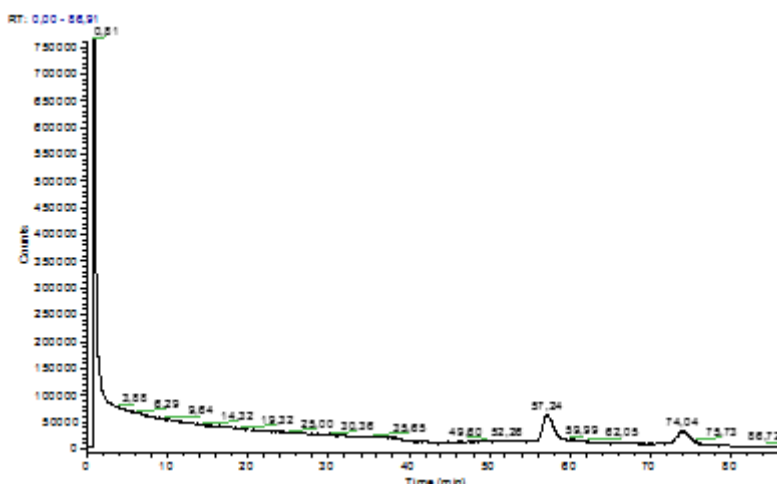


Figura 2.44. Cromatogramas obtidos para uma solução de 250ppms de uma mistura racémica de lactona de whisky à temperatura isotérmica de 80°C Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min⁻¹, volume da amostra injectada=1 µL.

Os ésteres L(-)-lactato de metilo e D(+)-lactato de metilo, e o éster de Mosher, também foram testadas não se tendo observado discriminação quiral.

Coluna 3 e 4

Em ambas as colunas foram testadas misturas racémicas de álcoois, nomeadamente o 2-nonanol, o feniletanol, o mentol racémico e o linalool, misturas racémicas de ésteres, como a lactona de whisky, o L(-) e D(+)-lactato de metilo e o éster de Mosher,. Misturas racémicas de ésteres como o epóxido de estireno e o dimetoxitetrahydrofurano, de ácidos, nomeadamente o ácido láctico e o ácido de Mosher, e uma mistura racémica de limoneno foram também testadas. Não se observou discriminação enantiomérica, tendo sido observado apenas um pico cromatográfico em cada cromatograma obtido. Apenas se observou discriminação diastereomérica no caso da solução de 250 ppm com mistura

racêmica de lactona de whisky. Não foram observados picos cromatográficos das misturas racêmicas do ácido lático, e do ácido de Mosher nos cromatogramas obtidos para ambas as colunas cromatográficas.

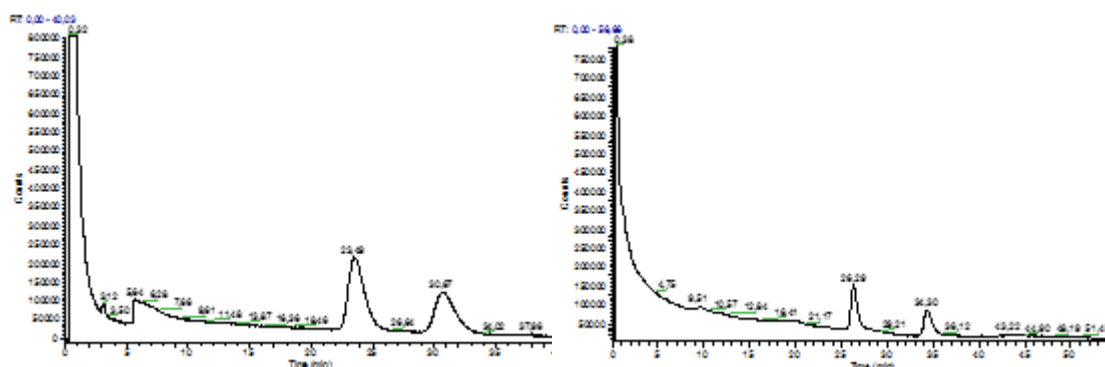


Figura 2.45. Cromatogramas obtidos para uma solução de 500ppms de uma mistura racêmica de lactona de whisky à temperatura isotérmica de 80°C Fluxo de gás de arraste= 1,0 mL.min⁻¹, volume da amostra injectada=1μL.

Coluna 5

A coluna 5 foi condicionada a 120°C tendo sido apenas testados os hidrocarbonetos C14, C17, a lactona de whisky e o epóxido de estireno com concentrações de 1000ppm e volume de injeção de amostra 0,2μL. A ausência de picos cromatográficos para os compostos mais voláteis nomeadamente hidrocarbonetos, revelou a fraca imobilização da fase estacionária na coluna cromatográfica.

Colunas 6 e 7

Foram apenas testadas duas soluções com misturas racêmicas nomeadamente a lactona de whisky e o epóxido de estireno. Observou-se através dos cromatogramas obtidos para a lactona de whisky e para o epóxido de estireno a fraca retenção dos analitos para com a fase estacionária. No caso da lactona de whisky foi realizada análise por headspace (**Figura 2.46**). Observou-se discriminação diastereomérica, no entanto os baixos tempos de retenção obtidos para a lactona de whisky comprovam a fraca interação da lactona de whisky com a fase estacionária. Tal também se observou através da análise dos cromatogramas obtidos para o epóxido de estireno(**Figura 2.47**). Neste caso também não foi observado discriminação enantiomérica. O segundo pico cromatográfico com tempo de retenção a 5,91 minutos (fluxo =0,55 mL.s⁻¹) e a 2,73 minutos (fluxo=1,93mL.s⁻¹) trata-se do estireno, precursor do epóxido de estireno.

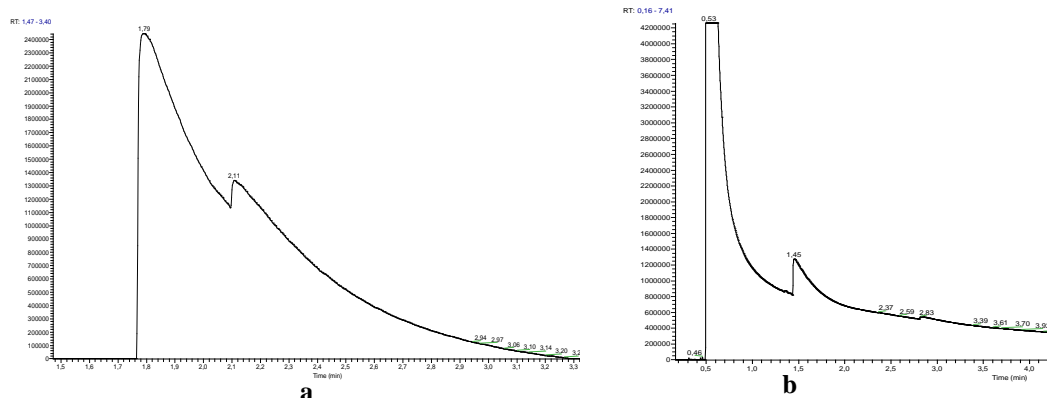


Figura 2.46. Cromatogramas obtidos à temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de 1000 ppm da lactona de whisky racémico na coluna com a fase estacionária **6** (a) **7** (b). Volume de injeção: 1,0 µL, split: 33 mL/min, pressão de gás de arraste 10 kPa e 35 kPa, e fluxo de gás de arraste 0,55 e 1,93 mL.s⁻¹.

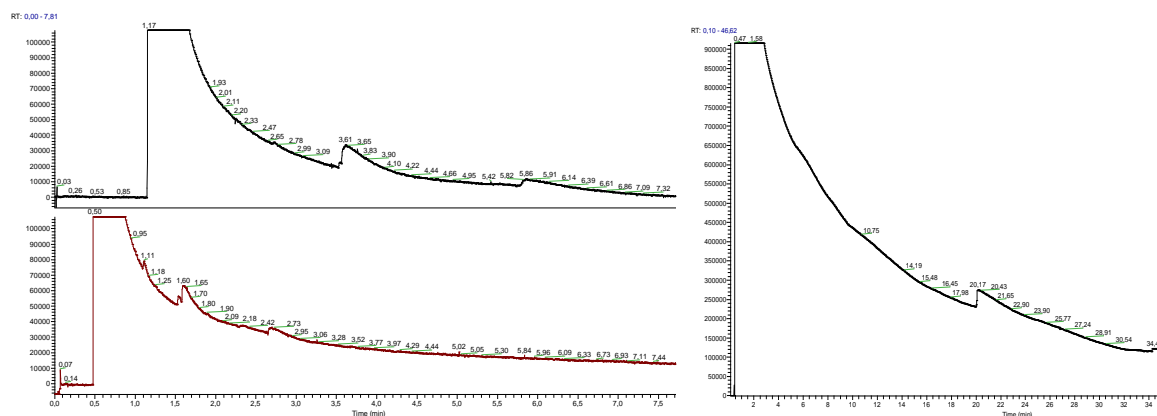


Figura 2.47. Cromatogramas obtidos à temperatura isotérmica de 80°C, de uma solução de 1000 ppm de epóxido de estireno racémico na coluna com a fase estacionária **7**. Volume de injeção: 1,0 µL, split: 33 mL/min, pressão de gás de arraste 10 kPa e 35 kPa, e fluxo de gás de arraste 0,55 e 1,93 mL.s⁻¹.

Os resultados obtidos para os testes de discriminação enantiomérica nas colunas 6 e 7 entram em concordância com os resultados obtidos no espectro de NOESY dos líquidos iônicos 53 e 54 derivados da α e β ciclodextrinas, onde a possibilidade de bloqueio da cavidade superior da ciclodextrina pelo espaçador flexível poderá impossibilitar assim a discriminação de moléculas quirais testadas.

***Capítulo 3.* Conclusões**

A separação e quantificação de enantiómeros em misturas racêmicas é fundamental em farmacologia, fabricação, controlo de qualidade entre muitas outras áreas. Devido às suas características físicas e químicas iguais, a sua separação só possível em contacto com ambientes quirais (através de selectores quirais) ou por derivatização. Entre os métodos analíticos usados para discriminação quiral encontra-se a cromatografia gasosa quiral onde é usada uma fase estacionária quiral para separação de enantiómeros.

Na presente tese foram realizados estudos computacionais de previsão de discriminação quiral em cromatografia gasosa de alta resolução com uma fase estacionária quiral que em estudos anteriores demonstrou discriminação enantiomérica, a fase estacionária triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose. Em primeiro lugar foram realizados estudos de *docking* Molecular baseado em cálculos de mecânica Molecular com recurso ao programa **Autodock**^[50] e cálculos semi-empíricos PM6 baseados na Mecânica Quântica. A pequena diferença de energia de complexação obtida através do programa **Autodock**^[50] (-0,377 a 0,042 kJ.mol⁻¹) não demonstra discriminação quiral significativa. Os valores obtidos de energia mais estável de complexação não estão de acordo com os tempos de retenção obtidos experimentalmente. No entanto ao re-optimizar as estruturas com o método semi-empírico PM6 foi possível correlacionar a ordem de eluição com as energias de complexação obtidas excepto no caso do complexo formado entre a ciclodextrina iónica e os enantiómeros do laurato de mentilo *RRS* ($t_r=101,34\text{min}$, $\Delta G=-2,018 \times 10^6$ e *SRR* ($t_r=104,27\text{min}$, $\Delta G=-2,018001 \times 10^6$ kJ/mol).

Com o objectivo de aumentar a distância da zona de electrodeficiência do líquido iónico da ciclodextrina bem como o contra-íão triflato foram sintetizados no laboratório dois novos líquidos iónicos com um espaçador -C₄H₈, nomeadamente o triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio)pentakis (2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose ($\eta=53,7\%$) e o triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose ($\eta=59,1\%$). Nestes líquidos iónicos foi testada a sua eficiência como fase estacionária em cromatografia gasosa quiral. A incapacidade de separação dos enantiómeros em cromatografia gasosa coincide com o possível bloqueio da cavidade primária da ciclodextrina pelo espaçador flexível observada por análise de espectroscopia de NOESY, impedindo assim discriminação dos enantiómeros testados. Em cromatografia gasosa foram também testadas as colunas com as fases estacionárias imobilizadas na coluna através do método estático com e sem pré-tratamento da parede de sílica sendo estas o líquido iónico triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose dispersa em cloreto de metil-piridínio, triflato de (2,3-Di-*O*-metil-6-*O*-pirdínio)heptaquis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomalto-octaose dispersa em cloreto de metil-piridínio e o líquido iónico triflato de (2,3-Di-*O*-metil-6-*O*-vinilimidazólio)pentakis (2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose imobilizada na coluna através do método estático sem pré-tratamento da coluna. De todas as colunas testadas foi obtida maior eficiência (3270,20 pratos teóricos/metro de coluna) e possível discriminação quiral do linalool, na coluna sem pré-tratamento da parede de sílica e revestida com o líquido iónico triflato de (2,3-Di-*O*-metil-6-*O*-

piridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil) ciclomaltoheptaose dispersa em cloreto de metil-piridínio. Duas colunas foram também imobilizadas com as fases estacionárias triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil) ciclomaltohexaose e outras duas com a fase estacionária triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio) hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose de igual procedimento sem tratamento da parede de sílica da coluna. Os diferentes resultados obtidos para cada coluna com a mesma fase estacionária levam-nos a concluir que o passo de revestimento da coluna com a fase estacionária é crucial na imobilização da fase estacionária na coluna cromatográfica e na discriminação quiral.

***Capítulo 4.* Procedimiento Experimental**

4.1 Preâmbulo

Reagentes e Solventes

Foram utilizados reagentes e solventes fornecidos pelas empresas: Panreac, Sigma Aldrich, Valente e Ribeiro, José M. Pereira.

As ciclodextrinas α e β foram secas durante a noite 20h sob vácuo e na presença de pentóxido de fósforo (P_2O_5) a 80°C. O imidazole foi seco durante a noite no exsiccador, 20h sob vácuo e na presença de P_2O_5 a temperatura ambiente. O tetrahidrofurano foi seco com fio de sódio. A dimetilformamida, a piridina e o diclorometano foram secos com peneiras moleculares (poros das peneiras 4Å) previamente activadas a 300°C na mufla entre 1-2h. O bicarbonato de potássio fora seco na mufla a 200°C durante 30 minutos. As seringas usadas foram colocadas também no exsiccador na presença de pentóxido de fósforo.

Cromatografia em camada fina

Para a realização da cromatografia em camada fina foram usadas placas de Sílica Gel (60 F254, Merck, ref. 1.0554) 20x20cm num suporte de alumínio com espessura de 0,25 mm. A revelação foi realizada por pulverização com uma solução de ácido sulfúrico/metanol (1:1) seguido de aquecimento a 140°C ou por uma solução de Ácido fosfomolibdico em etanol (10%) solução de $KMnO_4$ por contacto com vapores de iodo, ou por exposição a UV (254 nm) Camag.

Cromatografia em coluna

As cromatografias em coluna foram efectuadas, utilizando sílica Kieselgel 60(Merck), de granulometria 230-400 “mesh” como fase estacionária.

Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de 1H -RMN (400,13 MHz), ^{13}C -RMN (100,61 MHz), COSY, HSQC, HMBC, DEPT e ^{19}F (376MHz) foram traçados num espectrómetro Bruker ARX. Para cada caso os parâmetros de splitting foram indicados pela seguinte ordem: solvente deuterado utilizado, desvio químico de cada sinal (δ , ppm), multiplicidade de spin: s (singlete), d (dublete), m (multiplete), constante de acoplamento (J em Hz), intensidade relativa (nH) e atribuição de cada sinal de acordo com o composto em questão. Os espectros foram obtidos em $CDCl_3$ (99,8 atom % D) contendo traços de TMS (0,03% v/v) ($\delta=0$ ppm) como padrão interno.

Espectroscopia de Infra-Vermelho

Os espectros de infravermelho foram traçados num espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Spectrum 1000 FT-IR. As amostras foram analisadas em filme em janelas de cloreto de sódio (NaCl), usado para compostos líquidos ou óleos, ou em pastilhas de brometo de potássio (KBr) usado para compostos sólidos. Os espectros foram traçados de forma a obter a transmitância entre 4000 e 600 cm^{-1} . frequência do máximo de uma banda de absorção (ν_{max} em cm^{-1}); tipo de banda: ν_s (deformação axial simétrica), ν_{as} (deformação axial assimétrica), δ_s (deformação angular simétrica) δ_{as} (deformação angular assimétrica); atribuição a um grupo funcional na molécula (quando possível).

Rotação óptica

As rotações ópticas foram medidas no polarímetro PerKinElmer 241 MC, linha D do sódio.

Reveladores de cromatografia em camada fina

Solução de ácido fosfomolibdico preparada a partir de 10 g PMA em 100 mL de etanol absoluto e solução de KMnO_4 preparada a partir 1,5g de KMnO_4 , 10g de K_2CO_3 e 1,25 mL de 10% NaOH em 200 mL de H_2O destilada.

Cromatografia gasosa

Os líquidos iônicos foram revestidos em colunas capilares de sílica fundida com 12-15m e 0,25 mm de diâmetro interno, SGE (Australia). As colunas foram testadas num cromatógrafo Thermo Finnigan, Trace GC, com um split de 1/100 μL . Tanto o injector como o detector encontravam-se a 250°C. Os compostos a separar testados nas colunas de GC foram fornecidos pelas empresas Sigma Aldrich e Fluka e testados quando na forma de racematos ou testados enantiomericamente puros. As colunas foram seladas com um adesivo epóxi, UHU Schnellfest.

4.2 Estudos computacionais

4.2.1 Optimização da estrutura da molécula hóspede (receptor) α -ciclodextrina mono-6-piridínio permetilada e dos hospedeiros (ligando) enantioméricos

Inicialmente foram obtidas as coordenadas atômicas da α -ciclodextrina a partir da sua estrutura cristalizada por raio-X. O átomo de carbono C-6 de uma unidade de glucopirranose foi funcionalizado com fragmento piridínio e os grupos hidroxilos em C-2, C-3 de seis unidades de glucopirranose e os grupos hidroxilos em C-6 das restantes unidades de glucopirranose foram metilados. De seguida foram adicionados todos os átomos de Hidrogénio às estruturas. A geometria de todas as estruturas foi otimizada através do método PM6 implementado no programa MOPAC 2012. Para criação dos ficheiros de input do MOPAC 2012 recorreu-se ao programa Avogadro. As estruturas optimizadas para o complexo *host-guest* foram usadas para cálculos de docking molecular.

4.2.2 Simulação de Docking Molecular

A simulação de *docking* molecular foi realizada com o programa **AutoDock** 4.2.5.1^[50]. O algoritmo Genético Lamarckian (LGA) foi usado em combinação com um método de avaliação de energia *grid-based* para pré-cálculo da grade (“grid”) de acordo com os potenciais interatômicos de todos os átomos-prova presentes nas moléculas do hóspede e do hospedeiro incluindo o potencial Lennard-Jones para interações de *Van Der Waals* e o potencial *Coulomb* para interações electrostáticas. Foi usada uma grade de 49Å x 49Å x 41 Å com um espaçamento de grid de 0,375Å, coordenadas x = -5,988, y = 3,043, z = 0,635. Com o programa **AutoDockTools**^[50] a carga atômica parcial foi calculada pelo método Gasteiger. Foram realizadas 50 corridas do algoritmo genético com uma população de 300 indivíduos para obtenção de mais hipóteses de encontrar uma configuração mais favorável ao *docking*.

Em cada grupo, a energia mais baixa de configuração com a percentagem de maior frequência foi selecionada como grupo representativo.

4.3 Síntese

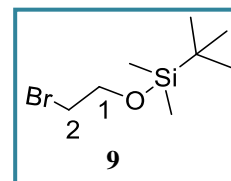
4.3.1 Síntese do (2-bromoetoxi)-(terc-butil)dimetilsililo (9)

A um balão de 50 mL foi adicionado bromoetanol (0,7 mL, 9,88 mmoles) dissolvidos em CH₂Cl₂ P.A. seco (5mL), piridina seca (0,8mL, 9,93mmoles, 1eq) e imidazole (67mg, 0,99 mmoles, 0,10eq). A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente durante 5 minutos tendo sido posteriormente adicionado sob banho de gelo Cloreto *terc*-butil-dimetilsililo (TBDMSCl) (1,49g, 9,88 mmoles, 1eq). A mistura reaccional foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente e atmosfera de azoto durante 48 horas. A reacção foi seguida por c.c.f (eluente:CH₂Cl₂/Hexano 6:4, revelação: UV, ácido fosfomolibdénio, KMnO₄). Para realizar o workup da mistura reaccional adicionou-se gelo à mistura reaccional tendo sido posteriormente a mesma diluída em CH₂Cl₂ P.A. (50ml). Para extrair o excesso de piridina em solução foi adicionado à fase orgânica uma solução aquosa de HCl 10% (5mL). A fase orgânica foi extraída e lavada de seguida com H₂O destilada (5mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada à secura. Obteve-se o composto **7** (m=2g, 8,36 mmoles η=84,66%), sob a forma de um óleo incolor.

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 3,89(t, J=6,8Hz, 2H's, H-2), 3,39 (t, J=6,4Hz, 2H's, H-1), 0,90 (C(CH₃)₃), 0,09(2 x CH₃).

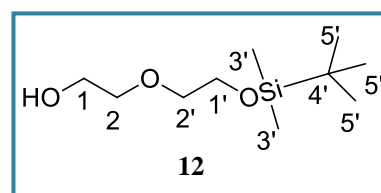
IV(filme em NaCl) ν_{máx}(cm⁻¹):2954(ν CH), 2927 (ν_s CH₃), 2884(ν_{as} CH₃), 2861(ν_{as} CH₃), 1469 e 1461(δ_s Si-CH₃), 1255 (CH₂-Br), 1123-1094(ν Si-O-C).

Os dados espectroscópicos estão de acordo com a literatura^[82]

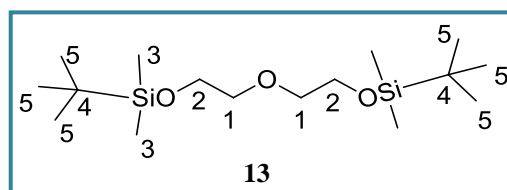


4.3.2 Síntese do 2-(2'-((terc-butildimetilsililo)etoxi)etanol (12)

A um balão de 50 mL foi adicionado dietilenoglicol (0,94 mL, 9,87 mmoles), dissolvido em 5mL de CH₂Cl₂ seco. Seguiu-se a adição sucessiva de piridina seca (0,8 mL, 9,93 mmoles, 1,01 eq) e imidazole (61 mg, 0,869 mmoles, 0,10 eq) sob gelo. Após 5 minutos sob agitação à temperatura ambiente a mistura foi arrefecida em banho de gelo e o TBDMSCl (1,50g, 9,95 mmoles, 1,01 eq) foi adicionado. A mistura reaccional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 24 horas. A reacção foi controlada por c.c.f. (eluente: CH₂Cl₂/Hexano (6:4), revelação: UV, Ácido fosfomolibdico, KMnO₄). Após



desaparecimento do material de partida, a mistura reaccional foi adicionada a um copo com gelo (5 mL) e extraída com CH₂Cl₂ P.A (20 mL). De seguida a fase orgânica foi separada e lavada com uma solução



aquosa de HCl 10% (5mL) e posteriormente lavada com H₂O destilada (5mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada à secua obtendo-se um óleo. A mistura bruta foi purificada por cromatografia em coluna. Coluna cromatográfica (d=1,0cm) de 70g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente CH₂Cl₂ P.A./Hexano (6:4). Obteve-se o composto dissililado **13** (m=200 mg) e o composto monossililado **12** (m=455,20 mg, 2,07 mmoles η =20,9%) na forma de um óleo incolor.

Composto 12

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 3,78 (t, J=4Hz, 2H's, H-1'), 3,73 (t, J=4Hz, 2H's, H-1), 3,63 (t, J=4Hz, 2H's, H-2') 3,60 (t, J=4 Hz, 2H's, H-2), 3,64 (t, J=8Hz, 1H, OH) 0,92 (s, 9H's, C(CH₃)), 0,09 (2xCH₃).

IV (filme em NaCl) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3428 (OH), 2930 (ν_s CH₃), 2858 (ν_{as} CH₂), 1472, 1463, 1361 (δ_s CH₃), 1107 (ν_{as} C-O-Si), 940, 837 (ν_s C-O-C), 778.

Composto 13

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 3,84 (t, J=5,6Hz, 2H's, H-1), 3,64 (t, J=5,6Hz, 2H's, H-2), 0,98 (s, 9H's, C(CH₃)), 0,15 (2xCH₃).

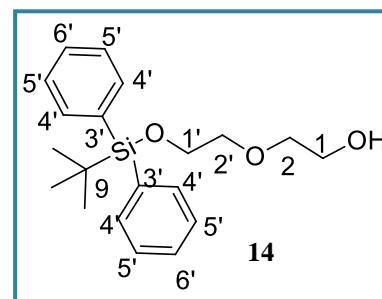
¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ (ppm): 72,94(C1), 62,92 (C2), 26,24 (C(CH₃)), 18,52(C5), -5,13(2xCH₃).

IV (filme em NaCl) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2929 (ν_s CH₃), 2858 (ν_{as} CH₃), 1463, 1463, 1361 (δ_s CH₃), 1255, 1106 (ν_{as} C-O-C), 940, 835 (ν_s C-O-C), 775.

4.3.3 Síntese do 2-(2-((*terc*-butildifenilsilil)oxi)etoxietanol(**14**)

Ensaio I

A um balão de 50 mL foi adicionado dietilenoglicol (448mg, 4,22 mmoles) e K₂CO₃ (6,8g, 49,20 mmoles, 11,65 eq), dissolvidos em CH₂Cl₂ seco (20 mL). De seguida foi adicionado à mistura reaccional sob gelo TBDPSCl (1,4 mL, 4,43 mmoles, 2 eq). A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente, atmosfera de azoto e sob agitação durante 52



horas. A reacção foi controlada por c.c.f (eluente: hexano/AcOEt(7:3)), revelação: UV, Ácido fosfomolibdénio e de KMNO₄. Após verificação da ausência do material de partida a mistura reaccional foi arrefecida a 0°C e diluída com 5mL de H₂O destilada gelada e extraída com CH₂Cl₂ P.A frio (40 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada à secua.

Ensaio II

A um balão de 50 mL foi adicionado dietilenoglicol (0,9mL, 9,5 mmoles) dissolvido em CH₂Cl₂ seco (10 mL). A solução sob atmosfera de azoto e agitação magnética, foi arrefecida em banho de gelo e de seguida adicionado imidazole (336mg, 5,08 mmoles, 0,60 eq) seguindo da adição de TBDPSCl (1,4 mL, 4,43 mmoles, 0,52 eq). A mistura reaccional foi arrefecida em banho de gelo durante 1h e posteriormente à temperatura ambiente durante 23 horas. Após observação do consumo do material de partida por c.c.f (eluente: hexano/AcOEt (7:3)), a mistura reaccional foi adicionada a um copo com gelo

(30 mL) e extraída com CH₂Cl₂ P.A (70 mL). A fase orgânica foi lavada sucessivamente com HCl 10% (10 mL), com uma solução saturada de NaHCO₃ e por fim com uma solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada à secura. Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=3,0cm) com 110g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente: Hexano /AcOEt (7:3), revelação: UV (254nm), ácido fosfomolibdênio e KMNO₄. Obteve-se o composto **14** monossililado (m=1,04g, 3,01 mmoles η =35,6%) sob a forma de óleo incolor.

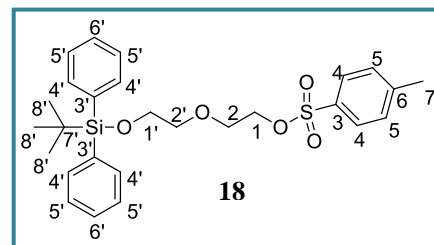
¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 7,69 (d, J=6,8Hz, 4H's, H-4'), 7,40 (tt, J=7,2Hz e 6,8Hz, 6H's, H-6' e H-5'), 3,81 (t, 2H's, J=6,8Hz, H-1'), 3,70 (t, 2H's, J=4,0Hz, H-1), 3,62 (tt, 4H's, J= 4,8Hz e 11,6Hz, H-2 e H-2'), 2,04 (s, 1H, OH), 1,06 (s, 9H's C(CH₃)).

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,61MHz) δ (ppm): 135,73(C4'), 133,66 (C3'), 129,82 (C5'), 127,80 (C6'), 72,50(C2), 72,37(C2'), 63,64(C1'), 62,01(C1), 26,93(C(CH₃)), 19,30(C7').

IV (filme em NaCl) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3436 (OH), 2953 (ν_{as} CH₂), 2930 (ν_{s} CH₃), 2897 (ν_{as} CH₃), 2858(ν_{s} CH) 1963, 1893, 1828, 1739, 1471, 1462, 1428, 1391, 1361(δ_{s} CH₃), 1138-1065 (ν_{as} Si-O-C), 954, 887, 823 (ν_{s} C-O-C), 738, 700.

4.3.4 Síntese do tosilato de 2-(2-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)etoxi)etil (**18**)

A um balão de 50 mL foi adicionado o composto monossililado **14** (105mg, 0,305mmoles) dissolvido em CH₂Cl₂ seco (5 mL,). De seguida foi adicionado à mistura reaccional sob gelo piridina seca (0,25mL, 0,310 mmoles, 1,02 eq) e cloreto de tosilato (60 mg, 0,314 mmoles, 1,03 eq). Após 5 minutos colocou-se a mistura reaccional à temperatura ambiente, atmosfera inerte de azoto e sob agitação permanecendo nestas condições durante 27 horas. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente:



Hexano/AcOEt (7:3). Após observação do consumo do material de partida a mistura reaccional foi de seguida adicionada a um copo com gelo (10 mL) e extraída com CH₂Cl₂ P.A (70 mL). A fase orgânica foi lavada sucessivamente com HCl 10% (5 mL) e com H₂O destilada (5mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada à secura. Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=2,5cm) com 50g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente:CH₂Cl₂ /Hexano (6:4), revelação: UV (254nm), ácido fosfomolibdênio e KMNO₄. Obteve-se o composto **18** (m=120,40mg, 0,241 mmoles, η =79,21%) Líquido incolor.

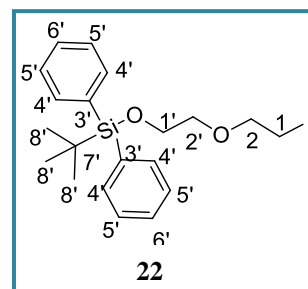
¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 7,78 (d, J=8Hz, 2H's, H-4), 7,66 (d, J=4Hz, 4 H's, H-4'), 7,38 (6H's, dt, J=7,2Hz, *meta* e *para*, H-5' e H-6'), 7,28 (d, J=8Hz, 2 H's, H-5), 4,13 (t, J=4,8Hz, 2H's, H-1), 3,73 (t, J=4,8Hz, 2H's, H-1'), 3,67 (2H's, t, J=4,8Hz, H-2'), 3,51 (2H's, t, J=5,2Hz, H-2), 2,40 (s, 3H's, CH₃), 1,03 (s, 9H's, C(CH₃)).

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ(ppm): 144,84(C3), 135,70 (C4'), 133,67 (C3'), 133,18 (C6), 129,90 (C5), 129,79 (C6'), 128,09 (C4), 127,79 (C5'), 72,69 (C2'), 69,43 (C1), 68,84 (C2), 63,53 (C1'), 26,92(C(CH₃)), 21,73(metil do grupo tosilo), 19,28(C7').

IV (filme em NaCl) ν_{máx}(cm⁻¹): 2957(ν_{as} CH₂), 2930 (ν_s CH₃), 2888 (ν_{as} CH₃), 2858(ν_s CH₂) 1964, 1915 e 1828 (bandas harmónicas dos aromáticos), 1658, 1599, 1472, 1488, 1428, 1391, 1360(ν_{as} S(=O)₂), 1177(ν_s S(=O)₂) 1148-1111 (ν_{as} C-O-C cíclico), 1020-776 (ν sistema (S-O-C)), 954, 887, 823 (ν_s C-O-C), 738, 700.

4.3.5 Síntese do composto *tert*-butil(2-(2-iodoetoxi)difenilsilano(22)

A um balão de 50 mL foi adicionado **14** (202,9 mg, 0,59 mmoles, 1 eq), dissolvido em 5 mL de CH₂Cl₂ P.A. . De seguida foi realizada a adição de imidazole (72,09 mg, 1,06 mmoles, 1,80 eq), seguida da adição de trifenilfosfina (185,17 mg, 0,71 mmoles, 1,20 eq) e de iodo (197,11 mg, 0,77 mmoles, 1,32 eq). A reacção ocorreu sob agitação, à temperatura ambiente atmosfera inerte de azoto e sob protecção de luz durante 4 horas.



Após verificação por c.c.f (eluente: Hexano/AcOEt (7:3)) do consumo do

material de partida, a mistura reaccional foi diluída em CH₂Cl₂ P.A. (70 mL) e extraída com H₂O destilada (5 mL). Procedeu-se à lavagem da fase orgânica com uma solução de Na₂SO₃ 5% (3 mL) seguida de lavagem com H₂O destilada. Filtrou-se, concentrou-se no evaporador rotativo e secou-se na linha e no exsicador sob pentóxido de fósforo. Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=1,0cm) com 15g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente: hexano/AcOEt (9,5:0,5), revelação: UV (254nm) e vapores de iodo. Obteve-se o composto **22** (m=222mg, 0,488 mmoles, η=83,04%) óleo incolor e o óxido de fosfina (m=30 mg, 0,114 mmoles).

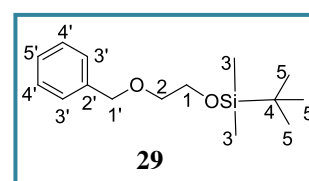
¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 7,69 (d, J=6,8Hz, 4H's, *orto* arilo H-4'), 7,40 (t, J=8Hz, 6 H's, *meta* e *para* arilo H-5' e H-6'), 3,81 (t, J=4Hz, 2H's, H-1'), 3,75 (t, J=4Hz e 8 Hz, 2H's, H-2'), 3,61 (t, J=4Hz, 2H's, H-2), 3,21 (t, J=8Hz, 2H's, H-1), 1,06 (s, 9H's, C(CH₃)).

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ(ppm): 135,76(C6), 133,71(C5), 129,79(C7), 127,80(C8), 72,26(C3), 72,15(C2), 63,66(C4), 26,97(C(CH₃)), 19,32(C9), 3,17(C1).

IV (filme em NaCl) ν_{máx}(cm⁻¹):3070, 3047, 2957(ν_{as} CH₂), 2928 (ν_s CH₃), 2888(ν_{as} CH₃), 2858(ν_s CH₂) 1960, 1888 e 1824 (bandas harmónicas dos aromáticos), 1588, 1599, 1471, 1461, 1427, 1390, 1360, 1263, 1190 (ν sistema (S-O-C)), 1113 (Si-O-C), 998, 940, 823, (ν_s C-O-C), 738, 702.

4.3.6 Síntese do (2-(benziloxi)etoxi)*tert*-butildimetilsilano(29)

A um balão de 50 mL foi adicionado álcool benzílico (90 mg, 0,83 mmoles) dissolvido em CH₂Cl₂ seco (3,5 mL) e uma solução aquosa de KOH 50% (0,4mL) e Brometo de tetra-*n*-butilamónio (TBAB) (37mg, 0,153

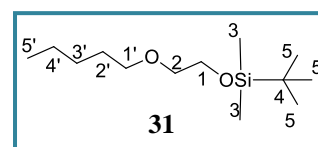


mmoles, 0,14eq). Por último adicionou-se o composto **9** (200 mg, 0,836 mmoles, 1eq). A mistura reaccional permaneceu sob agitação, atmosfera de azoto e à temperatura ambiente durante 23 dias e 19 horas. A reacção foi controlada por c.c.f (eluente: CH₂Cl₂/hexano (5,5:4,5), revelação: UV (254nm), ácido fosfomolibdico e KMNO₄). Após verificação de ausência do material de partida por c.c.f, a mistura reaccional foi diluída com 10 mL de H₂O destilada, e extraída com CH₂Cl₂ P.A. (2x40mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada no evaporador rotativo. Posteriormente o óleo resultante foi seco sob vácuo e no exsicador na presença de pentóxido de fósforo. Obteve-se o composto **29** (massa da mistura bruta =152mg).

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 7,41(m, 5H's, H-3'-5'), 4,73 (s, 1H, H-1'), 3,95 (t, J=6,4Hz, 2H's, H-1), 3,45 (t, J=6,4Hz, 2H's, H-2), 0,98 (s, 9H's, C(CH₃)₃), 0,15 (s, 6H's, 2xCH₃).

4.3.7 Síntese do *terc*-butildimetil(2-(pentiloxi)etoxi)silano(**31**)

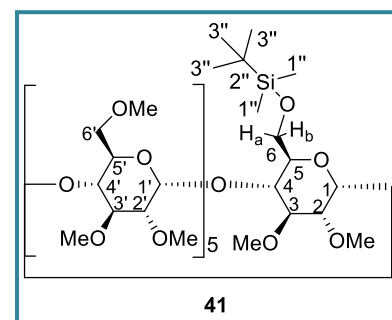
A um balão de 50 mL foi adicionado 1-pentanol (74 mg, 0,840 mmoles) dissolvido em CH₂Cl₂ seco (3,5 mL). Procedeu-se à adição sucessiva de uma solução de KOH 50% (1mL), TBAB (38mg, 0,84 mmoles, 0,25eq) e do composto **9** (2-bromoetoxidimetilsilano) (90,20mg, 0,827 mmoles, 1 eq). A solução foi mantida à temperatura ambiente, agitação e sob atmosfera de azoto durante 6 dias e 7 horas. A reacção foi controlada por c.c.f (eluente:CH₂Cl₂/Hexano:6:4, revelação: UV, H₂SO₄/MeOH (1:1)). Após verificação de ausência do material de partida a mistura reaccional foi dissolvida com 10 mL de H₂O e extraída com CH₂Cl₂ P.A. (2x40mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada no evaporador rotativo. Secou-se na linha de vácuo e no exsicador na presença de pentóxido de fósforo. Obteve-se o composto **31** (massa mistura bruta= 180mg).



¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 3,95 (2H's, t, J=2,8Hz, H-1), 3,69 (2H's, t, J=6,4Hz, H-2), 3,45 (3H's, t, J=3,45Hz, H-1'), 1,63 (1H, q, J=6,8Hz, H-2'), 1,47 (2H's, m, H-3' e H-4'), 1,40 (3H's, t, J=4,0Hz, H-5') 0,97 (s, 3H's, C(CH₃)), 0,15 (s, 2xCH₃).

4.3.8 Síntese do (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-*terc*-butildimetilsilil)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose (**41**)

Num balão de 50 mL contendo uma mistura de α-ciclodextrina (1,0 g, 1,03 mmoles) e imidazole (156,05 mg, 2,29 mmoles, 2,23 eq) em agitação, foi adicionado DMF seco (17 mL) sob atmosfera de azoto. A solução foi aquecida sob banho de óleo a 84°C. Após estabilização da temperatura a 84°C foi adicionado gota-a-gota TBDMSCl (474,08, 3,15 mmoles, 3,06 eq). Após agitação a 84°C durante 1 hora exacta foi adicionado sob gelo lentamente durante 30 minutos NaH (2,71g, 113,07 mmoles, 110 eq). A mistura reaccional foi mantida sob gelo durante 30 minutos e posteriormente à temperatura ambiente durante 1



hora. De seguida foi realizada a adição de MeI (8,8mL, 140,74 mmoles, 136,91 eq) gota-a-gota durante 30 minutos. A mistura reaccional foi deixada à temperatura ambiente, sob agitação e atmosfera inerte de árgon durante 17 horas. De modo a realizar o quenching do NaH residual foi adicionado à mistura reaccional MeOH P.A (6mL) cuidadosamente. Posteriormente a mistura reaccional resultante foi derramada sob água gelada (100 mL) e extraída com CHCl₃ P.A. (3x70 mL). A fase orgânica extraída foi lavada sucessivamente com uma solução de Na₂SO₃ 5% (5 mL), água destilada (2x20 mL) e seca com Na₂SO₄ anidro. De seguida filtrou-se, concentrou-se à secura e secou-se na linha de vácuo no exsiccador sob pentóxido de fósforo. (m=389 mg 0,2935 mmoles, η =28,55%). Sólido branco, p.f.= 98-101 °C, $[\alpha]_D^{26} = +133,5^\circ$ (c= 3,8 CHCl₃). Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=2,9cm) com 70g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente Acetato de etilo P.A./MeOH P.A. (10:0,2). Obteve-se o composto mono-sililado **41**.

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 5,06 (m, 5H's, H-1'), 5,02 (d, J=2 Hz, 1H, H-1) 4,18 (dd, ¹J=11,6Hz ²J=3,6Hz, 1H, H-6a) 3,88-3,07 (m, 86Hs, H-2-H-6b, 17x-OMe (3,49ppm) e H-2' -H-6'), 0,90 (s, 9Hs, C(CH₃)), 0,062 (2 x CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,61MHz) δ (ppm): 100,43 (C1'), 100,26(C1'), 100,23 (C1'), 100,18 (C1'), 99,78 (C1'), 82,64(C1) , 82,59 (-OMe), 82,36 (C2'), 82,28 (C2), 82,19 , 81,65, 81,48, 81,33, 77,16, 72,57 (C5), 71,57(C6'), 71,52(C6'), 71,35, 62,35 (C6), 61,96, 61,91, 61,88, 59,17(C6'), 59,13(C6'), 59,10, 58,01, 57,98 (C3), 57,97(C3'), 57, 94(C3'), 57,92(C3'), 26,08(C(CH₃)), 18,48 (C5''), -5,08 (2 x CH₂).

IV(pastilhas de KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2977(ν_{as} CH₂), 2930 (ν_{s} CH₃), 2860 (ν_{as} CH₃), 2831(ν_{s} CH₂) 1460, 1363 (δ_{s} CH₃), 1162-1073 (ν_{as} C-O-C cíclico), 1039 (ν_{s} Si-O-C) 972, 823 (ν_{s} C-O-C).

4.3.9 Síntese do (2,3-di-O-metil-6-O-terc-butildimetilsilil)hexakis(2',3',6'-tri-O-metil)ciclomaltoheptaose (**42**)

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de β -ciclodextrina **42** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do derivado de α -ciclodextrina **41**.

Reagentes

β -ciclodextrina (1,003 g, 0,884 mmoles)

imidazole (133,76 mg, 1,96 mmoles)

DMF seco (17 mL, 220,48 mmoles)

TBDMSCl (0,7 mL, 2,70 mmoles)

NaH (2,33g, 97,09 mmoles)

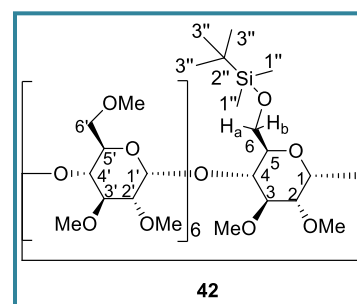
MeI (7,53 mL, 120,96 mmol)

Quantidade de **42 obtida:** m=200mg 0,130 mmoles

η :14,70%. Sólido branco.

p.f.:102-105 °C,

$[\alpha]_D^{20} = +129,94^\circ$ (c=1,0 g/100mL; CHCl₃).



¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 5,18 (d, J=4Hz, 1H, H-1), 5,17 (d, J=4Hz, 2H, H-1') 5,15 (d, J=4Hz, 4Hs, H-1), 4,08 (dd, ¹J= 16Hz e ²J=8Hz, 1H, H-6a) 3,95-3,11 (m, 104Hs, H-2-H-6b, 20x-OMe (3,51 ppm) 36Hs, H-2' -H-6'), 0,90 (s, 9Hs, C(CH₃)), 0,06 (2x CH₃)ppm.

4.3.10 (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-*terc*-butildifenilsilil)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose(43)

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de α-ciclodextrina **43** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do derivado de α-ciclodextrina **41**.

Reagentes

α-ciclodextrina (1 g, 0,881 mmoles)

imidazole (150 mg, 2,20 mmoles)

DMF seco (20 mL)

TBDPSCI (0,7 mL, 2,70 mmoles)

NaH (1,40g, 58,32 mmoles)

MeI (7,5 mL, 120,47 mmoles)

Quantidade de 43 obtida: m=900mg. Sólido branco.

η:24,16%

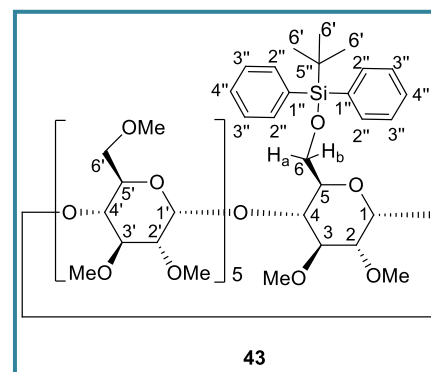
p.f.: 77-81 °C

$[\alpha]_D^{25^\circ C} = +154,83$ (c=3,0g/100mL; CHCl₃).

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 7,72 (d, J= 4,0Hz, 4Hs, *orto* arilo H-2''), 7,37 (tt, J= 8Hz *meta* e *para* arilo, 6Hs, H-2'' e H-3'' respectivamente), 5,22 (d, J=1,2Hz, 1H, H-1), 5,15 ppm (d, J=4Hz, 4Hs,H-1), 5,07 (d, J=2Hz, 1H, H-1'), 4,40 ppm (d, J=8Hz, 1H,H-6a), 4,04-2,99 ppm (m, 5Hs, H-2-H-6b, 20x-OMe) 3,49ppm (m, 30Hs, H-2' ,H-6'),1,05 ppm (s, 9Hs, C(CH₃)).

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,61MHz) δ(ppm): 136,10(C-2''), 135,88 (C-2''), 133,96(C-1''), 133,61(C-1''), 129,62(C-4''), 127,67(C-3''), 127,55(C-3''), 100,42(C-1'), 100,27(C-1'), 100,19(C-1'), 99,71(C-1'), 82,64, 82,57, 82,48, 82,43, 82,38, 82,30, 82,22, 81,48, 81,41, 81,30, 81,26, 77,48, 77,16, 76,84, 72,68(C-6'), 71,56(C-6'), 71,44(C-6'), 71,30(C-6'), 62,88(C6), 62,03, 61,95, 61,92, 61,87, 60,51, 59,10, 59,06, 59,00, 58,87, 58,08, 57,89, 57,85, 57,82, 26,97, 21,16, 19,61, 14,30.

IV(pastilhas de KBr) ν_{máx}(cm⁻¹): 2929 (ν_s CH₃), 2931 (ν_s CH₂) 1635 (bandas harmônicas dos grupos aromáticos), 1458 (deformação axial C=C), 1111-1038 (ν_{as} C-O-C cíclico e Si-O-C), 823 (ν_s C-O-C), 706 (δ_s C-H aromático).



4.3.11 Síntese do (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-*terc*-butildifenilsilil)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose (**44**)

Ensaio I

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de β -ciclodextrina **44** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do derivado da β -ciclodextrina **42**.

Reagentes

β -ciclodextrina (1 g, 0,881 mmoles)

imidazole (150 mg, 2,20 mmoles)

DMF seco (20 mL)

TBDPSCI (0,7 mL, 2,70 mmoles)

NaH (1,40g, 58,32 mmoles)

MeI (7,5 mL, 120,47 mmol)

Quantidade de **46** obtida= 116mg, 0,065mmoles, sólido branco

η =7,27%(m=106mg, 0,065 mmoles)

p.f.= 78-84 °C

$[\alpha]_D^{25^\circ C} = +156,74$ (c=2,5g/100mL; CHCl₃).

Ensaio II

De modo a aumentar o rendimento de **44** foi realizado igual procedimento experimental para obtenção de **44** com exceção da evaporação o DMF antes do processo de extração.

Reagentes

β -ciclodextrina (2,5 g, 2,20 mmoles)

imidazole (334,39 mg, 4,91 mmoles, 2,23 eq)

DMF seco (30mL)

TBDPSCI (1,75 mL, 6,74 mmoles, 3,96 eq)

NaH (5,82g, 242,51 mmoles, 110,10 eq)

MeI (15 mL, 240,95 mmoles, 141,94 eq)

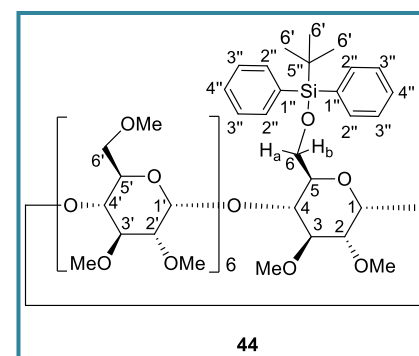
Quantidade de **46** obtida= 182,26mg,0,40 mmoles Sólido branco

η =18,13%,

p.f.= 85-87°C,

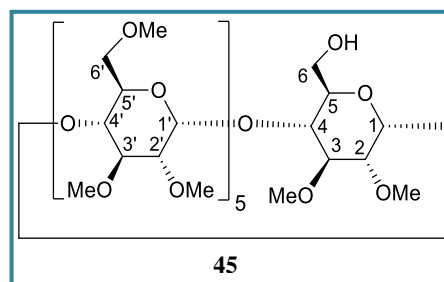
$[\alpha]_D^{20^\circ C} = +147,89^\circ$ (c=3,8, CHCl₃).

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 7,73 (d, J= 4,0Hz, *orto* arilo, 4Hs, H-2''), 7,37 (tt, J= 8Hz, 6Hs, *meta* e *para* arilo H-2'' e H-3''), 5,31 (d, J=4,0Hz, 1H, H-1), 5,20 (d, J=4,0Hz, 1H, H-1'), 5,15 (d, 2Hs, J=2,4Hz, H-1) 5,09 (d, 3Hs, J=3,6Hz, H-1), 4,43 (d, ¹J=8Hz e ²J=4Hz, 1H, H-6a), 3,98-3,08 (m, 87H's, H-2-H-6b, 17x-OMe, H-2' -H-6'), 1,05 (s, 9Hs, C(CH₃)).



4.3.12 Síntese do (2,3-di-*O*-metil)pentaquis(2',3',6' – tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose (**45**)

O THF foi previamente seco com fio de sódio. Num balão de 50 mL foi dissolvido o composto **41** (735mg, 0,507 mmoles) em THF (6 mL, 73,99 mmoles) e adicionado lentamente F-TBA (1,98 mL, 6,84 mmoles, 13,5 eq). A mistura reaccional foi deixada em refluxo sob agitação e atmosfera inerte de azoto durante 24h. O THF foi evaporado. Antes de proceder à extracção líquido-líquido com CH₂Cl₂ P.A. (70mL) e com uma solução de Brine (15mL). A fase orgânica foi recolhida, seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada no evaporador rotativo. Secou-se na linha de vácuo e no exsiccador sob pentóxido de fósforo. Após observação do consumo do material de partida foi realizada purificação da mistura bruto tendo sido preparada uma coluna cromatográfica (d=1,0cm) com 20g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente Acetato de etilo P.A./MeOH P.A. (8:2). Obteve-se o composto **45** (m=270mg 222,90 mmoles, η =51,03%). Sólido branco, p.f.=183-185 °C, $[\alpha]_D^{20} = +125,61^\circ$ (c=4,2; CHCl₃).



¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 5,05 (m, 7H's, H-1'), 3,95-3,16 (m, 88H's, H-2-H-6, 17x-OMe, H-2' –H-6').

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,61MHz) δ (ppm): 100,18 (C1'), 100,12 (C1'), 100,02 (C1'), 99,82 (C1'), 99,15, 99,11, 99,06, 98,91, 82,60, 82,49, 82,42, 82,34, 82,29, 82,25, 82,20, 82,10, 81,93, 81,85, 81,39, 81,36, 77,36, 72,62, 71,64 (C6'), 71,57 (C6'), 71,55 (C6'), 71,51 (C6'), 71,49 (C6'), 71,41, 71,34, 71,27, 62,51 (C6), 61,94, 61,91, 61,89, 61,85, 61,79, 61,73, 59,22, 59,15, 59,07, 58,10, 58,00, 57,93, 29,77.

IV(pastilhas de KBr) ν (cm⁻¹): 3447 (–OH) 2929 (ν_s CH₃), 1170-1039(ν_{as} C-O-C cíclico), 706.

4.3.13 Síntese do (2,3-di-*O*-metil)hexaquis(2',3',6' – tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose (**46**)

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de α -ciclodextrina (**45**) foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção dos derivados de β -ciclodextrina (**46**).

Reagentes

composto **42** (600mg, 0,363 mmoles)

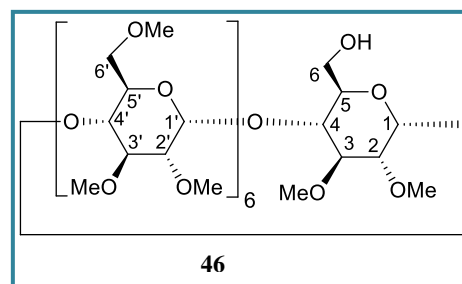
THF (4,70 mL)

F-TBA (1,45 mL, 5 mmoles).

Quantidade de **46** obtida: 420mg 0,297 mmoles, Sólido branco η =81,79%.

p.f.=102-105 °C

$[\alpha]_D^{20} = +129,94^\circ$ (c=4,52; CHCl₃).



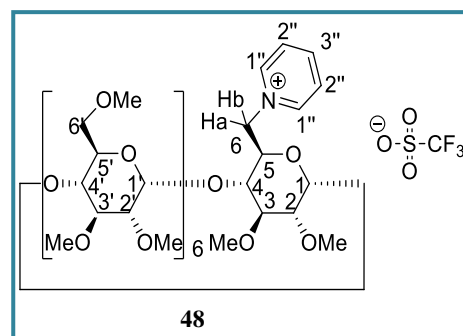
¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 5,22 ppm (d, J=3,2Hz, 1H, H-1'), 5,16 ppm (d, J=3,2Hz, 2Hs, H1) 5,10 ppm (d, J=2,4Hz, 3Hs, H1), 5,03 ppm (d, J=3,2Hz, 1H's, H-1), 3,99-2,932 ppm (m, 103Hs, H-2-H-6b, 20x-OMe, 103Hs, H-2' -H-6'), 1,05 ppm (s, 9Hs, C(CH₃)).

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,61MHz) δ(ppm): 99,14 (C1'), 98,96 (C1), 82,53, 82,27, 82,19, 82,13, 82,07, 81,98, 81,89, 81,81, 81,76, 81,60, 81,29, 80,84, 80,79, 80,72, 80,12, 79,98, 78,68, 77,48, 77,36, 77,16, 76,84, 71,88, 71,79, 71,71, 71,63, 71,48 (C6), 71,33, 71,19, 70,99, 61,75 (C6'), 61,74, 61,66, 61,46, 61,42, 61,18, 59,30, 59,28, 59,20, 59,13, 59,09, 58,87, 58,79, 58,63, 58,50, 58,42, 58,34.

IV(pastilhas de KBr) ν_{máx}(cm⁻¹): 3446 (-OH) 2929 (ν_s CH₃), 1158-1038 (ν_{as} C-O-C cíclico), 706.

4.3.14 Síntese do composto triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-piridínio)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose (48)

A uma balão de 50 mL contendo **46** (70,4 mg) dissolvido piridina seca (2mL) foi adicionado a 0°C anidrido trifluorometanosulfônico (0,1mL, 0,727 mmol). A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente durante 4 dias sob agitação e sob atmosfera inerte de argon. De seguida a mistura reacional foi arrefecida a 0°C e após verificação do consumo do material por c.c.f (CHCl₃/MeOH 9:1) foi adicionado CH₂Cl₂ frio (70 mL). De seguida para extrair a piridina em excesso foi adicionado HCl 5% frio (2x5 mL), NaHCO₃ aquoso frio 5% (5 mL) e H₂O gelada (2mL). A fase orgânica foi recolhida e seca com Na₂SO₄ e concentrou-se no evaporador rotativo. A purificação da mistura bruta foi realizada em cromatografia em coluna (d=1,9 cm) com sílica gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente CHCl₃/MeOH 9:1 como de modo a obter o composto **48**. (36,7 mg; 0,0226 mmol; η=45,5%). Óleo laranja-acastanhado.

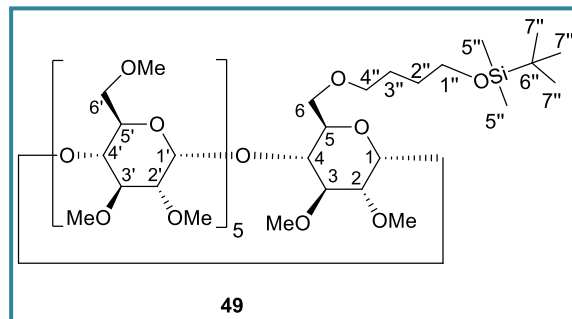


¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 9,1 (d, 2H's, J=6 Hz, H-1''), 8,47 (t, J= 7,6 Hz, 1H, H-3''), 8,04 (t, J=6,8Hz, 2H's, H-2''), 5,34(d, J=12Hz, 1H, H-6a), (d, J=6Hz, 6H's, H-1'), 5,17-5,0 (m, H-1 e H1'), 4,30 (d, J=9,6Hz, 1H, H-6b), 3,94-3,17(m, 102H's, H2-H5 e H2' -H5', 20xOMe).

Os dados espectroscópicos estão de acordo com a literatura^[58].

4.3.15 Síntese do (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butoxi-*tert*-butildimetilsilil)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose(49)

A um balão de 50 mL foi adicionado o composto **45** (120 mg, 0,099 mmoles) dissolvido em THF (4,5 mL, 55,48 mmoles, 560,03 eq). Sob banho de gelo foi adicionado NaH (60% disperso em óleo mineral) (120 mg, 5mmoles, 50,48 eq). A mistura reaccional permaneceu sob gelo durante 30 minutos e à temperatura ambiente 30 minutos. Foi adicionado de seguida o *tert*-butil(4-iodobutoxi)dimetilsilano (373,62 mg, 1,19 mmoles, 12 eq) sob gelo. Após 5



minutos à temperatura ambiente a mistura reaccional foi mantida sob refluxo 3 horas certas. Após refluxo a mistura reaccional permaneceu 1h15 minutos à temperatura ambiente. Após observação do consumo do material de partida por c.c.f (eluente: AcOEt/MeOH (10:0,2) foi adicionado à mistura reaccional em gelo MeOH P.A (4 mL) para destruir o NaH em excesso. De seguida foi evaporado no evaporador rotativo o THF. Após evaporação foi adicionado gelo (10mL). A fase aquosa foi extraída com éter etílico (3x70 mL). De seguida procedeu-se à lavagem da fase orgânica com H₂O destilada (5mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada no evaporador rotativo. De seguida secou-se na linha e no exsiccador sob pentóxido de fósforo. Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=1,0cm) com 14g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente Acetato de etilo P.A./MeOH P.A. (10:0,2). Obteve-se o composto mono-sililado **49** (m=105,30mg, 0,110 mmoles η =76,05%). Sólido branco, p.f.=89-91°C, $[\alpha]_D^{26} = 130,52^\circ$ (c=3,35; CHCl₃).

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 5,16 (m, 6H's, H-1' e H-1), 4,0-3,29 (m, 102H's, H-1'' e H-4'', H-6a e H-6b, H-3'-H-5', H-3-H-5, 17x(-OCH₃), H2-H2'), 3,28 (dd, ¹J=8Hz e ²J=4 Hz, 6H's, H-2 e H-2'), 1,75 (q, J=6,8 Hz, 2H's, H-3''), 1,66 (q, J=8,4Hz, 2H's, H-2''), 1,0 (s, 9H's, C(CH₃)), 0,15 (s, 6H's, 2 x CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ (ppm): 100,31(C1'), 100,27(C1'), 100,23(C1'), 100,03(C1),82,61 (C5')82,56(C4), 82,52(C4'), 82,34(C2), 82,30(C2'), 82,24(C2'), 81,34 (C3), 77,48, 77,36, 77,16, 77,16, 76,84, 71,57(C6' e C7), 71,31(C5), 69,60 (C10), 63,07(C6), 61,92 , 60,51, 59,16, 59,11, 59,08, 57,99, 57,95(-OCH₃), 29,63(C8), 26,32(C9), 26,07(C(CH₃)), 18,44(C5''), -5,19(2 x CH₃).

IV(pastilhas de KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2977(ν_{as} CH₂), 2930 (ν_{s} CH₃), 2860 (ν_{as} CH₃), 2831(ν_{s} CH₂) 1460, 1363 (δ_{s} CH₃), 1162-1039 (ν_{as} C-O-C cíclico), 972, 823 (ν_{s} C-O-C).

4.3.16 Síntese do (2,3-Di-O-metil-6-O-butoxi-*tert*-butildimetilsilil) hexakis (2',3',6'-tri-O-metil) ciclomaltoheptaose(50)

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de β -ciclodextrina **50** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do derivado de α -ciclodextrina **49**.

Reagentes

Composto **45** (172 mg, 0,122 mmoles)

THF (5,5mL)

NaH (170 mg, 7,08 mmoles, 58,30 eq)

tert-butil(4-iodobutoxi)dimetilsilano (458,3 mg, 1,46 mmoles, 12 eq)

Quantidade de **50** obtida= 150mg, 0,150 mmoles, Sólido branco

η =77,06%

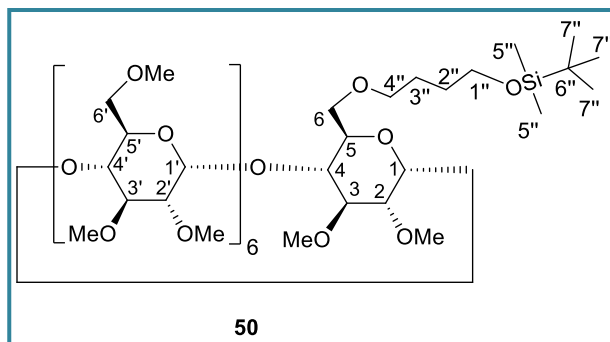
p.f.=90-91 °C

$[\alpha]_D^{26^\circ} = 135,74^\circ (c=3,45; \text{CHCl}_3)$.

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 5,11 (m, 6H's, H-1'), 5,03 (d, 1H, H-1), 3,98-3,48 (m, 102H's, H-3-H-6, H-3'-H-6', H1'', H4'' e 20x(-OCH₃)), 3,28 (dd, ¹J=8Hz e ²J=4Hz, 6H's, H2 e H2'), 1,75 (q, 2H's, J=5,6 Hz, H-2''), 1,66 (q, 2H's, J=6,8Hz, H-3''), 1,0 (s, 9H's, C(CH₃)), 0,15 (s, 6H's, 2xCH₃).

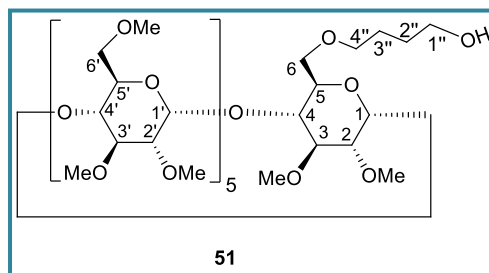
¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ (ppm): 100,12(C1'), 99,03-98,68 (C1), 82.63, 82.52, 82.49, 82.46, 82.28, 82,10-82,03(C2 e C2'), , 81.90, 81,83(C3), 81,76-81,55 (-OMe), 81,21, 81,16, 80,79, 80,57, 80,44, 80,37, 80,24, 80,17, 80,06, 77,36, 77,24, 77,04, 76,72, 71,74-71,38(C6' e C4''), 70,94, 70,93, 70,90 , 70,86 , 69,99 , 69,95 , 69,93 , 69,50(C1''), 62,92(C6), 61,97, 61,92, 61,86, 61,81, 61,51, 61,48, 61,43, 61,41, 61,39, 60,20, 59,15, 59,06, 59,02 , 58,93(C4'), 58,86-58,70(C3), 58.53, 58.50, 58,46(C4), 57.89, 57.84, 57.73, 57.69, 57.61, 29,53(C8), 26,23(C9), 25,94(C(CH₃)), 18,31(C6''), -5,31(2xCH₃).

IV(pastilhas de KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2974(ν_{as} CH₂), 2930 (ν_{s} CH₃), 2831 (ν_{as} CH₃), 2831(ν_{s} CH₂) 1460, 1365 (δ_{s} CH₃), 1162-1036 (ν_{as} C-O-C cíclico), 970, 836 (ν_{s} C-O-C).



4.3.17 Síntese do (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butoxi)pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose (**51**)

Num balão de 50 mL foi adicionado o composto **49** (105mg, 0,075 mmoles) e dissolvido em THF (1,0 mL, 11,94 mmoles, 158,91 eq). Foi adicionado gota-a-gota TBAF (0,25 mL, 0,913 mmoles, 13,5 eq) à mistura reaccional sob gelo, agitação e atmosfera inerte de azoto. A mistura reaccional foi mantida sob refluxo durante 3 horas e



15 minutos. A reacção foi controlada por c.c.f (eluente: AcOEt/MeOH (9:1), rev: UV, H₂SO₄/MeOH (1:1) e vapores de iodo). Observado o consumo de material de partida foi realizada purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=1,0cm) com 12g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente Acetato de etilo P.A./MeOH P.A. (9:1). Obteve-se o composto desprotegido **51**. (m=64 mg, 0,050 mmoles η =66,38%). Sólido branco, p.f.=90-92°C, $[\alpha]_D^{26^\circ\text{C}} = 102,17^\circ (c=4,23 \times 10^{-3}; \text{CHCl}_3)$.

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 5,05 (d, J=6Hz, 6H's, H-1' e H-1), 3,90-3,36 (m, H-3-H-6, H-3'-H-6', H-1'', H-4'' e 17xOMe) 3,17 (dd, ¹J=7,2Hz e 2Hz, 6H's, H-2 e H-2'), 1,70 (q, J=8Hz, 2H's, H-2''), 1,63 (q, J=8Hz, 2H's, H-3'').

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ (ppm): 100,30-100,03(C1 e C1') 82,61 (C5') 82,56(C4), 82,52(C4'), 82,34(C2), 82,31(C2'), 82,26(C2'), 81,41 (C3), 77,48, 77,36, 77,16, 77,16, 76,84, 71,59(C6' e C4''), 71,52-71,35(C5), 69,76 (C1''), 63,07(C6), 61,91-57,90 (-OMe) 30,38(C8), 26,77(C2'').

IV(pastilhas de KBr) $\nu_{\text{máx}}(\text{cm}^{-1})$: 3504 (-OH), 2979(ν_{as} CH₂), 2932 (ν_{s} CH₃), 2835 (ν_{as} CH₃), 1402, 1365 (δ_{s} CH₃), 1195-1038 (ν_{as} C-O-C cíclico), 971, 823 (ν_{s} C-O-C).

4.3.18 Síntese do (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butoxi)hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose (**52**)

O procedimento experimental para a obtenção do derivado de β -ciclodextrina **52** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do derivado de α -ciclodextrina **51**.

Reagentes

composto **50** (158mg, 0,099 mmoles)

THF (1,50 mL)

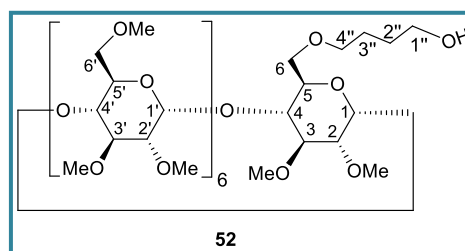
TBAF (0,5 mL, 1,82 mmoles, 13,5 eq)

Quantidade de **52** obtida: 120,50 mg, 0,081 mmoles, sólido branco

η =82,12%,

p.f.=110-112°C,

$[\alpha]_D^{26^\circ\text{C}} = +142,13 (c=4,95; \text{CHCl}_3)$.



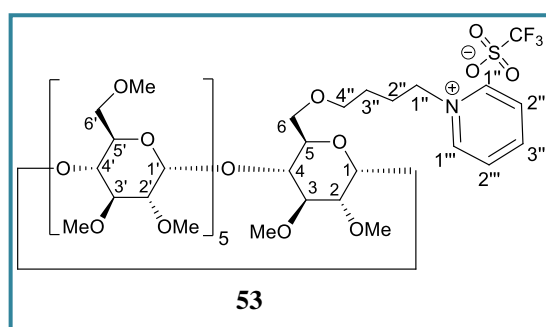
¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 5,12 (m, 7H's, H-1' e H-1), 3,92-3,39 (m, H-3-H-6, H-3'-H-6', H-1'', H-4'' e 20xOMe) 3,17 (dd, ¹J=9,2Hz, ²J=2,3Hz, 7H's, H-2 e H-2'), 1,69 (q, 4H's, H-2'' e H-3'').

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ(ppm): 99,13-98,98(C1 e C1'), 82,19(C5'), 81,84, 80,75, 80,60, 80,54, 80,45, 80,33, 80,12, 79,83, 77,16, 71,55(C6' e C4''), 71,34, 71,09, 71,04, 69,76(C1''), 62,65(C6), 61,61, 61,57, 61,54, 59,15, 59,11, 59,06, 58,72, 58,69, 58,62, 30,25(C3''), 26,73(C2'')

IV (pastilhas de KBr), ν_{máx}(cm⁻¹) : 3487 (-OH), 2939 (ν_s CH₃), 2831 (ν_{as} CH₃), 1458, 1367 (δ_s CH₃), 1196-1037 (ν_{as} C-O-C cíclico), 970, 857 (ν_s C-O-C).

4.3.19 Síntese do líquido iónico triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio) pentakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltohexaose(**53**)

A um balão de 50 mL foi adicionado o composto **51** (71,90 mg, 0,056 mmoles) dissolvidos em piridina seca (1 mL, 12,40 mmoles, 221,40 eq). Posteriormente deu-se a adição gota-a-gota de anidrido trifílico (0,1 mL, 0,702 mmoles, 12,53 eq) à mistura reaccional sob gelo. A mistura reaccional foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação e atmosfera de azoto durante 24h35 minutos.



A solução foi concentrada num evaporador rotativo de baixa pressão a 30 mbar e a 40°C. A mistura foi diluída em 80 mL de CH₂Cl₂ P.A. e arrefecida a 0°C. Lavou-se sucessivamente com HCl (5%, 5 mL) e água (5 mL). Secou-se com Na₂SO₄, filtrou-se e concentrou-se até à secura. Para purificação da mistura bruta foi preparada uma coluna cromatográfica (d=1,0cm) com 10g sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm) usando como eluente CHCl₃ P.A./MeOH P.A. (9:1), revelação: UV, H₂SO₄/MeOH (1:1) e vapores de iodo. Obteve-se o líquido iónico **53** (m=45 mg, 0,03 mmoles η=53,74%). Sólido branco, p.f.=80-83°C, $[\alpha]_D^{26^\circ C} = +103,5 (c=1; CHCl_3)$

¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ(ppm): 9,04 (d, 2H's, J=5,6Hz, H-1'''), 8,47 (t, J= 7,6 Hz, 1H, H-3'''), 8,05 (t, J=8,0Hz, 2H's, H-2'''), 5,05 (d, J=6Hz, 5H's, H-1'), 4,97 (d, J=3,2Hz, 1H, H-1), 4,79 (dt, J=12 e 8 Hz, 1H, H-1''a), 4,70 (dt, ¹J=12Hz e ²J=8Hz, 1H, H-1''b), 4,03 (dd, ¹J=5,6Hz e ²J=1,6Hz, 1H, H-6a), 3,80-3,38 (m, H-3-H-6, H-3'-H-6', H-1'', H-4'', 17xOMe, H-2 e H-2'), 2,12 (q, J=6,8Hz, 2H's, H-2''), 1,68 (q, J=7,2Hz, 2H's, H-3'').

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ(ppm):145,2 (C1'''), 143,2 (C3'''), 128,5 (C2'''), 100,47-100,43(C1), 100,32-100,25(C1'), 82,62 (C5), 82,48(C5'), 82,46(C2), 82,30(C2'), 71,50(C7), , 71,45 (C3), 71,44(C4'), 71,34(C4), 71,06(C3'), 69,76 (C6), 62,05 (C10), 81,315, 82,37 e 71,50 (-OMe), 28,9(C9), 25,7(C8).

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ(ppm):-78,36.

4.3.20 Síntese do líquido iônico triflato de (2,3-di-*O*-metil-6-*O*-butilpiridínio) hexakis(2',3',6'-tri-*O*-metil)ciclomaltoheptaose(**54**)

O procedimento experimental para a obtenção do líquido iônico **54** foi realizado nas mesmas condições experimentais para obtenção do líquido iônico **53**.

Reagentes

composto **52** (80 mg, 0,054 mmoles)

piridina seca (1 mL)

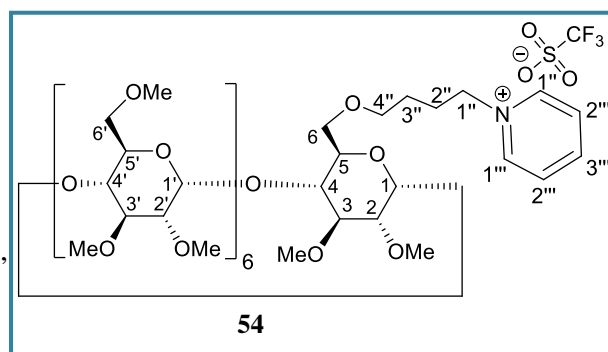
anidrido trifílico (0,8 mL, 0,518 mmoles, 12,53 eq)

Composto **62** obtido: 54 mg, 0,032 mmoles Sólido amarelo,

$\eta=59,11\%$

p.f.=82-85°C

$[\alpha]_D^{24^\circ C}=+103,5(c=1,2; CHCl_3)$.



¹H-RMN (CDCl₃, 400,13MHz) δ (ppm): 9,09(d, J=5,6Hz, 2H's, H-1'''), 8,47 (t, J= 8,0 Hz, 1H, H-3'''), 8,06 (t, J=6,8Hz, 2H's, H-2'''), 5,12 (ddd, J=3,6Hz, 6H's, H-1'), 5,03 (d, J=3,6Hz, H-1), 4,79 (dt, ¹J=13,2Hz, ²J=6,4Hz, 2H's, H-1''), 3,84-3,20 (m, H-3-H-6, H-3'-H-6', H-1'', H-4'', 20x-OCH₃, H-2 e H-2') 2,15 (q, J=3,2Hz, 2H's, H-2''), 1,73 (m, 2H's, H-3'').

¹³C-RMN (CDCl₃,100,61MHz) δ (ppm):145,22 (C1'' e C3''), 128,5 (C2''), 99,57 (C1), 99,49-99,07 (C1'), 82,62 (C5), 82,159 (C2 e C2'), 81,83(C5), 71,56(C6'), 71,34(C7), 71,43 (C3 e C3'), 80,18(C4), 71,21(C4'), 71,06(C3'), 69,36 (C6), 61,96(C10), 81,315, 82,37 e 71,50 (-OMe), 28,9(C9), 25,7(C8).

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ (ppm):-78,36.

IV(pastilha de KBr), $\nu_{\text{máx}}(\text{cm}^{-1})$: 3068(ν C-H aromático), 2976(ν_{as} CH₂), 2929 (ν_{s} CH₃), 2830 (ν_{s} CH₂) 1636(ν C=C), 1487-1459 (ν C=N), 1263 e 1281 (ν S(=O₂)), 1170 (ν_{s} S(=O₂)), 1163-1039 (ν_{as} C-O-C cíclico e ν sistema S-O-C), 970 e 855 (ν_{s} C-O-C), 755 (ω , C-H), 639 (-CF₃).

4.4 Cromatografia

Pré-tratamento das colunas

Rugosidades de NaCl (Whiskers) – Ativação da superfície interna do capilar de sílica

As colunas **1**, **3** e **5** sofreram pré-tratamento com uma solução equimolar de NaOH/HCl. Inicialmente as colunas foram lavadas com acetona P.A., de modo a remover vestígios de gordura existentes no capilar, com uma pressão de azoto 5 mbar. De seguida foram lavadas com H₂O mili-Q e deixadas a purgar durante a noite sob corrente de hélio (1-2 bar). Posteriormente foram purgadas com He à pressão de 1-2 bar. Finalmente foram revestidas com 4 mL de uma solução de NaOH (1M) sob corrente de azoto e após expulsão da solução de NaOH, foram revestidas com 4 mL de uma solução de HCl (1M).

4.4.1 Revestimento das colunas com as fases estacionárias

Método estático:

Colunas 1-5

Os capilares de sílica entre 12-13 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, previamente lavados com acetona P.A, foram revestidos com uma solução contendo a fase estacionária. Esta solução encontra-se dentro de um vial ligado a uma linha de azoto. Uma extremidade da coluna foi mergulhada nessa solução ao passo que a outra extremidade foi selada com cola epoxida e colocada a pressionar sob corrente de hélio a 5,5 bar durante um a dois dias (pressurização). Esta etapa força a passagem da solução contida no vial para o interior do capilar revestindo-o. Posteriormente, para evaporação do solvente, as colunas foram submersas num banho de água termostaticado a 40°C, e colocada a extremidade do capilar não selado sob vácuo durante 48h. Finalmente foi realizada a purga das colunas com hélio (1 bar) durante 2h para remoção de vestígios de solvente. Todas as colunas ficaram a condicionar no forno cromatográfico com programa de temperatura gradiente com início em 50°C, rampa de 2°C/min até 120°C durante 48 horas e antes de serem testadas 2 h à temperatura do teste a ser realizado.

Colunas 6 e 7

Um capilar de sílica de 15m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, previamente lavado com acetona P.A, foi revestido com uma solução contendo a fase estacionária, selada numa das extremidades com cola epoxi e colocada a pressionar com hélio a 5,5 bar durante dois dias. Posteriormente procedeu-se ao processo de evaporação do solvente (C₂H₃N) com o aquecimento da coluna no forno cromatográfico a 70°C e sob pressão reduzida 7,5 mmHg durante 48h. Finalmente a coluna foi purgada com hidrogénio durante 2h para remoção de vestígios de solvente. Ambas as colunas foram condicionadas no forno cromatográfico a 120°C durante 48 horas e 2 h à temperatura do teste cromatográfico a ser realizado.

***Capítulo 5.* Referências Bibliográficas**

- [1] Flack, H. D. *Acta crystallographica. Section A* **2009**, 65, 371–389.
- [2] Van der Spek, T. M. *Annals of Science* **2006**, 63, 157–177.
- [3] Gal, J. *Topics in current chemistry* **2013**, 340, 1–20.
- [4] Berthod, A. In *Chiral Recognition in Separation Methods*; Berthod, A., Ed.; Springer Berlin Heidelberg: New York, **2010**; pp. 1–32.
- [5] Berthod, A. *Analytical Chemistry* **2006**, 78, 2093–2099.
- [6] Chen, G.; Jiang, M. *Chemical Society Review* **2011**, 40, 2254–2266.
- [7] Loftsson, T.; Duchêne, D. *International journal of pharmaceutics* **2007**, 329, 1–11.
- [8] Szente, L.; Szemán, J. *Analytical Chemistry* **2013**, 85, 8024–8030.
- [9] Del Valle, E. M. M. *Process Biochemistry* **2004**, 39, 1033–1046.
- [10] Villiers, A. *Compte Rendu Chimie* **1891**, 112, 536–538.
- [11] Szejtli, J. *Chemical Reviews* **1998**, 98, 1743–1754.
- [12] Szejtli, J. *Pure and Applied Chemistry* **2004**, 76, 1825–1845.
- [13] Kurkov, S. V; Loftsson, T. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, 453, 167–180.
- [14] Harata, K.; Uekama, K.; Otagiri, M.; Hirayama, F. *Journal of Inclusion Phenomena* **1984**, 1, 279–293.
- [15] Rekharsky, M. V; Inoue, Y. *Chemical Reviews* **1998**, 98, 1875–1918.
- [16] Ettre, L. S. *Pure and Applied Chemistry* **1993**, 65, 819.
- [17] McNair, H. M.; Miller, J. M. *Basic Gas Chromatography*; Wiley, **2011**.
- [18] Poole, C. F. *Gas Chromatography*; Elsevier, **2012**.
- [19] Martin, A. J. P.; Synge, R. L. M. *Biochemical Journal* **1941**, 35, 1358–1368.
- [20] Gurr, M. *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society* **2012**, 58, 129–150.
- [21] Ettre, L. S.; Zlatkis, A. *75 years of chromatography: A Historical Dialogue*; Journal of Chromatography Library; Elsevier Science, **2011**; Vol. 17, pp. 447–452.
- [22] Harris, D. C. *Quantitative Chemical Analysis*; W. H. Freeman, **2010**.
- [23] Schurig, V.; Nowotny, H.-P. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1990**, 29, 939–957.

- [24] Schurig, V. *Journal of chromatography. A* **2001**, 906, 275–299.
- [25] Jr., K. G.; Grob, G.; Grob, K. *Journal of Chromatography A* **1978**, 156, 1–20.
- [26] Grob, K.; Grob, G. *Journal of Chromatography A* **1981**, 219, 13–20.
- [27] Grob, K. *Journal of Chromatography A* **1980**, 198, 176–179.
- [28] Rood, D. *The Troubleshooting and Maintenance Guide for Gas Chromatographers*; Wiley, **2007**.
- [29] Rohrschneider, L. *Chromatographia* **1993**, 37.
- [30] Lubeck, A. J.; Sutton, D. L. *Journal of High Resolution Chromatography* **1983**, 6, 328–332.
- [31] Schurig, V. *Journal of Chromatography A* **2001**, 906, 275–299.
- [32] Schurig, V.; Nowotny, H.-P. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1990**, 29, 939–957.
- [33] Issaraseriruk, N.; Shitangkoon, A.; Aree, T. *Journal of molecular graphics & modelling* **2010**, 28, 506–512.
- [34] Zhou, H.; Lai, W.-P.; Zhang, Z.; Li, W.-K.; Cheung, H.-Y. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2009**, 23, 153–162.
- [35] Koscielski, T.; Sybilska, D.; Iljczak, J. *Journal of Chromatography* **1983**, 280, 131–134.
- [36] Koscielski, T.; Sybilska, D. *Journal of chromatography. A* **1983**, 261, 357–362.
- [37] Špánik, I.; Kačeriaková, D.; Krupčík, J.; Armstrong, D. W. *Chirality* **2014**, 26, 279–285.
- [38] Armstrong, A. B. L. H. D. W.; Analytiques, S.; Lyon, U. De. **2001**, 63–68.
- [39] Payagala, T.; Armstrong, D. W. *Chirality* **2012**, 24, 17–53.
- [40] Gaidamauskas, E.; Norkus, E.; Butkus, E.; Crans, D. C.; Grincienė, G. *Carbohydrate Research* **2009**, 344, 250–254.
- [41] Maas, B.; Dietrich, A.; Karl, V. *Journal of Microcolumn Separation* **1993**, 427, 421–427.
- [42] Tang, W.; Ng, S. C.; Sun, D. *Modified Cyclodextrins for Chiral Separation*; SpringerLink : Bücher; Springer, **2013**.
- [43] Španik, I.; Krupcik, J.; Skacani, I.; Sandra, P.; Armstrong, D. W. *Journal of Chromatography A* **2005**, 1071, 59–66.
- [44] Xiao, D.-Q.; Ling, Y.; Fu, R.-N. *Chromatographia* **1998**, 47, 557–564.
- [45] Aichholz, R.; Böhlz, U.; Fischer, P. *Journal of High Resolution Chromatography* **1990**, 13, 234–238.

- [46] Juvancz, Z.; Szejtli, J. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2002**, *21*, 379–388.
- [47] Venema, A.; Tolsma, P. *Journal of High Resolution Chromatography* **1989**, *12*, 32–34.
- [48] Sottriffer, C.; Stahl, M.; Klebe, G. In *Handbook of Chemoinformatics*; Wiley-VCH Verlag GmbH, **2008**; pp. 1732–1768.
- [49] Barril, X.; Soliva, R. *Molecular bioSystems* **2006**, *2*, 660–681.
- [50] Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. *Journal of computational chemistry* **2009**, *30*, 2785–2791.
- [51] Morris, G. M.; Goodsell, D. S.; Halliday, R. S.; Huey, R.; Hart, W. E.; Belew, R. K.; Olson, A. J. *Journal of Computational Chemistry* **1998**, *19*, 1639–1662.
- [52] Freemantle, M. *An Introduction to Ionic Liquids*; Royal Society of Chemistry, **2010**; Vol. 2, p. 281.
- [53] Ghandi, K. *Green and Sustainable Chemistry* **2014**, *4*, 44–53.
- [54] Gaumont, A.-C.; Génisson, Y.; Guillen, F.; Zgonnik, V.; Plaquevent, J.-C. In *Catalytic Methods in Asymmetric Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc., **2011**; pp. 323–344.
- [55] Wang, Y.; Li, X.; Cao, W.; Li, Y.; Li, H.; Du, B.; Wei, Q. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, *61*, 618–624.
- [56] Weber, W.; Andersson, J. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2014**, *406*, 5347–5358.
- [57] Huang, K.; Zhang, X.; Armstrong, D. W. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217*, 5261–5273.
- [58] Costa, N.; Matos, S.; Gomes da Silva, M. D. R.; Pereira, M. M. *ChemPlusChem* **2013**, *78*, 1466–1474.
- [59] Lupescu, N.; Ho, C.; Jia, G.; Krepsinsky, J. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **1999**, *18*, 99–104.
- [60] Zhou, Z.; Li, X.; Chen, X.; Hao, X. *Analytica chimica acta* **2010**, *678*, 208–214.
- [61] Tran, C. D.; De Paoli Lacerda, S. H. *Analytical Chemistry* **2002**, *74*, 5337–5341.
- [62] Lai, X.; Tang, W.; Ng, S.-C. *Journal of chromatography. A* **2011**, *1218*, 3496–3501.
- [63] Wang, Y.; Xiao, Y.; Yang Tan, T. T.; Ng, S.-C. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49*, 5190–5191.
- [64] Wang, Y.; Ong, T.-T.; Li, L.-S.; Tan, T. T. Y.; Ng, S.-C. *Journal of chromatography. A* **2009**, *1216*, 2388–2393.
- [65] Wang, Y.; Ueno, A.; Toda, F. *Chemistry Letters* **1994**, 167–170.
- [66] Berthod, A.; Chang, C.-D.; Armstrong, D. W. *Talanta* **1993**, *40*, 1367–1373.

- [67] Dodziuk, H.; Chmurski, K.; Jurczak, J.; Koźmiński, W.; Lukin, O.; Sitkowski, J.; Stefaniak, L. *Journal of Molecular Structure* **2000**, 519, 33–36.
- [68] Bagryanskaya, E.; Bardelang, D.; Chenesseau, S.; Finet, J.-P.; Jicsinszky, L.; Karoui, H.; Marque, S. A.; Möbius, K.; Polovyanenko, D.; Savitsky, A.; Tordo, P. *Applied Magnetic Resonance* **2009**, 36, 181–194.
- [69] Nagle, A. S.; Salvatore, R. N.; Cross, R. M.; Kapxhiu, E. a; Sahab, S.; Yoon, C. H.; Jung, K. W. *Tetrahedron Letters* **2003**, 44, 5695–5698.
- [70] Kirsch, J. F.; Jencks, W. P. *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86, 833–837.
- [71] Mazur, R. H.; Searle, G. D. *Journal of Organic Chemistry* **1963**, 28, 286–293.
- [72] Skaanderup, P. R.; Poulsen, C. S.; Hyldtoft, L.; Jorgensen, M. R.; Madsen, R. *Synthesis-Stuttgart* **2002**, 1721–1727.
- [73] Corey, E. J.; Venkates.A. *Journal of the American Chemical Society* **1972**, 94, 6190–6191.
- [74] Taylor, S. L.; Martin, J. C. *The Journal of Organic Chemistry* **1987**, 52, 4147–4156.
- [75] Dinev, Z.; Gannon, C. T.; Egan, C.; Watt, J. a; McConville, M. J.; Williams, S. J. *Organic & biomolecular chemistry* **2007**, 5, 952–959.
- [76] Garegg, P. J.; Regberg, T.; Stawinski, J.; Stromberg, R. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1987**, 271–274.
- [77] Wojtkielewicz, A.; Maj, J.; Szczepaniak, L.; Morzycki, J. W. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2010**, 142, 59–65.
- [78] Ambrose, M. G.; Binkley, R. W. *Journal of Organic Chemistry* **1983**, 674–677.
- [79] Martínez, A. G.; Subramanian, L. R.; Hanack, M.; Williams, S. J. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Ltd, **2001**.
- [80] Miki, T.; Kikuchi, N. *Microchimica Acta* **1981**, 76, 119–130.
- [81] Goodwin, B. L. *Journal of Chromatography A* **1979**, 172, 31–36.
- [82] Schraml, J.; Kvičalová, M.; Blechta, V.; Čermák, J. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1997**, 35, 659–662.
- [83] Hübschmann, H. J. *Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications*; Wiley, **2009**.
- [84] Starks, C. M.; Liotta, C. L. *Phase-Transfer Catalysis: Fundamentals, Applications, and Industrial Perspectives*; Springer Netherlands, **1994**.

Anexos